



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
MAESTRÍA EN CIENCIA E INGENIERÍA DE MATERIALES
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN DE MATERIALES

**“CARACTERIZACIÓN MECÁNICA DEL CARTÍLAGO ARTICULAR
BOVINO Y PORCINO”**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIA E INGENIERÍA DE MATERIALES

PRESENTA

CÉSAR ENRIQUE LÓPEZ GUTIÉRREZ

TUTOR PRINCIPAL:

DRA. MARÍA CRISTINA PIÑA BARBA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MATERIALES

COMITÉ TUTOR

DRA. KARLA KARINA GÓMEZ LIZÁRRAGA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MATERIALES

DR. DAVID MAURICIO GIRALDO GÓMEZ
FACULTAD DE MEDICINA

CIUDAD UNIVERSITARIA, CIUDAD DE MÉXICO, FEBRERO DEL 2023



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.

Jurado Asignado:

Presidente: Dr. Arturo Barba Pingarrón.

Primer Vocal: Dra. María Cristina Piña Barba.

Segundo Vocal: Dr. Lauro Bucio Galindo.

Tercer Vocal: Dr. Filiberto Rivera Torres.

Secretario: Dra. Yareli Rojas Aguirre.

Lugares donde se realizó la tesis:

Laboratorio de Biomateriales LB-102,

Laboratorio de Pruebas Mecánicas LB-006,

Instituto de Investigaciones en Materiales (IIM),

Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Tutor de tesis:

Dra. María Cristina Piña Barba

Firma

Dedicatoria

- Al Lucero que ilumina mi camino, mi madre que con su amor llena mi vida de alegría, tranquilidad y confianza para enfrentar los retos de la vida.*
- A mi padre que me dio su consejo en el momento adecuado y me exigió disciplina y esfuerzo para estimular mis insaciables ganas de aprender y llegar a lo más alto.*
- A mi fascinante e increíble compañera de vida Rebeca, de quién he aprendido a superarme a pesar de las circunstancias, quién me enseña apreciar los detalles de la vida y agradecer lo que tengo, por ser el integrante más entregado en nuestro equipo en esta aventura de la vida, te amo preciosa.*
- A mi hermano Jaime que es mi ejemplo a seguir, es mi más grande alegría y guardián.*
- A mi hermana Karina quién me inspira valentía, responsabilidad y seguridad, eres mi motivación.*
- A mi hermana Dulce, la persona que más admiro es la más inteligente y sensata, me ha acompañado toda mi vida en todo momento dándome fuerza y valor para seguir adelante.*
- A mi hermano Juan quién me hace ver la vida con un propósito, nadie se preocupa más por mí que él, gracias a él nunca he perdido el rumbo y me anima a ir por más, no sé qué haría sin su protección.*
- Gracias por siempre demostrarme su amor y apoyo incondicional, como siempre he dicho ustedes son mi motor.*
- A mis sobrinos Lalo, Azul, Sofía, Alberto, André, Emma y Abigail que son mi vida entera, mi motivo de nunca darme por vencido, hacen de mi mundo el más feliz solo con existir, los amo y siempre los amaré con toda mi alma.*
- A mis cuñadas Karen la más favorita y Ale la favorita, mis cuñados Agustín el favorito y Kevin el favorito, gracias por sus porras y ser los más buena onda de la historia.*
- A la chulada de familia Medrano Cisneros por su incondicional amistad y amor sincero, son mi tesoro invaluable gracias por estar en mi vida.*
- A mis mejores amigos Camilo y Padme por su compañía, aliento y amor incondicional.*

César Enrique López Gutiérrez

Instituto de Investigación de Materiales

Universidad Nacional Autónoma de México 2022

Agradecimientos

Terminando mi etapa en la maestría en ciencia e ingeniería de materiales, quiero agradecer de todo corazón a las siguientes personas que me ayudaron para concluir con éxito mi proyecto:

-A la Dra. Cristina Piña por darme oportunidad de ser su alumno, por su paciencia y preocupación en mi desarrollo académico y personal, por su apoyo incondicional y nunca dejarme solo, por encaminar mi pasión por el desarrollo de biomateriales a favor del ser humano, por enseñarme el verdadero sentido de la responsabilidad y seriedad en mi vida, por confiar en mí aun cuando yo no confié en mí mismo, no podría terminar de describir lo maravilloso que es ser alumno de la Doctora Cristina Piña y la impecable persona que es, gracias por dar todo de usted, es un honor haber sido su alumno.

-A la Dra. Karla Gómez y al Dr. David Giraldo por orientarme y ayudarme en todo lo que necesité, urgencias, consejos, orientaciones, críticas constructivas para formar de la mejor manera mis capacidades y trabajos académicos, gracias por ser mis tutores y ayudarme de la manera más profesional posible.

-Al M.C Eliezer Hernández por su excelente asesoría en las pruebas mecánicas, diseño de experimentos, interpretación de resultados y discusión de los mismos, gracias por acompañarme en mi proyecto junto con sus estudiantes Jesús y Yair, su apoyo hizo posible la elaboración de mi proyecto de tesis.

-Al Dr. Arturo Barba Pingarrón por iniciar este proyecto conmigo como mi comité tutorial, brindarme apoyo en todo lo que necesité y en abrirme las puertas de su laboratorio de superficies en CENISA en la facultad de ingeniería junto con el Dr. Rafael Parra, le agradezco ser un excelente tutor.

-A mis sinodales al Dr. Filiberto Rivera, la Dra. Yareli Rojas, el Dr. Lauro Bucio y el Dr. Arturo Barba por sus sugerencias y consejos para que el presente trabajo enfatice su importancia y calidad, gracias por su perspectiva constructiva y tiempo dedicado a revisar del proyecto que se realizó.

-Al Ing. Carlos Flores por su consejo y asesoría en microscopía de transmisión, barrido y fuerza atómica, gracias por abrirme las puertas y por el tiempo que dedicó a encontrar la mejor manera de realizar investigación en la morfología del cartílago.

-A la Señorita Irma Elena López de la unidad de microscopía de la facultad de medicina por su ayuda y servicio en preparación y acondicionamiento de muestras para SEM y TEM de cartílago porcino y bovino, para su posterior visualización gracias por su excelente servicio y comunicación.

-A mis compañeros del laboratorio de biomateriales: Isaac Yamil, David Abad, Jimena, Ángela, Israel Alfonso, Luis, Mercurio y Daniel por sus observaciones, propuestas de mejora, colaboración, experiencia y talento, los admiro a todos.

-Agradezco infinitamente a Biocriss y a su excelente y muy capaz equipo: Pedro Flores, Isabel Avilés, Alexis Duarte, Isaac Muñoz, Emanuel Vidals, Guadalupe Jaramillo, Alma Martínez, Karla Dávalos, Gerardo Flores, Martha García, Edgar Camacho, Bernardo, Guillermo Medellín, Saúl Flores Jr. y Saúl Flores. Gracias por su asesoría, aliento, cariño y amistad que me brindaron en la etapa de experimentación conocerlos es lo mejor que me ha pasado.

-Al Dr. Birzabith Mendoza y al Ing. David Gutiérrez de la Universidad de Guanajuato campus León en la División de ciencias e ingeniería, por invitarme y ofrecer su ayuda para cuantificar glucosaminoglicanos en muestras de cartílago bovino y porcino en su laboratorio en la división, además de ayudarme junto con el Dr. Mauricio Flores en el Centro de Investigación de Óptica A.C. (CIO) realizando microscopía confocal para estudiar la morfología del cartílago articular porcino y bovino, todos ellos con su excelente hospitalidad y atención gracias.

-A las señoritas Lic. Diana Arias, Lic. Esther Carrillo, Lic. Isabel Gómez, Lic. María Luisa Reséndiz y Lic. Rosario Santibáñez por su entrega y dedicación a la orientación, apoyo y notificación día y noche de los trámites necesarios del posgrado y becas, sin ellas sería muy difícil la labor de tramites estudiantiles.

-A la Universidad Nacional Autónoma de México y al Instituto de Investigaciones en Materiales

-Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para los estudios de maestría y obtener como fruto ésta tesis y oportunidad de futuras investigaciones.

-Al Programa de Apoyo a los Estudios de Posgrado (PAEP) y el Posgrado en Ciencia e Ingeniería de Materiales (PCeIM) por el apoyo en la compra de reactivos que solicite durante el posgrado.

-Al PAPIIT por su apoyo económico a través del proyecto IT100222 de DGAPA-PAPIIT.

Resumen

Este trabajo comprende la caracterización mecánica de cartílago hialino articular (CHA) del cóndilo femoral, de especies porcino y bovino, la caracterización se basó en las normas ASTM F2451-05 para compresión confinada y ASTM D732 para esfuerzo cortante.

Para medir las propiedades mecánicas se diseñó y construyó una cámara confinada para compresión y una cámara de tipo punzón para medir esfuerzo cortante, las cuales midieron con éxito las 2 interacciones que rigen el comportamiento mecánico del CHA:

- 1.- Dependiente del flujo del fluido (compresión confinada).
- 2.- Independiente del flujo del fluido, interacción de la matriz sólida compuesta por colágeno tipo II-proteoglicano entrecruzados (esfuerzo cortante).

Las variables a estudiar fueron el módulo agregado (H_a), la permeabilidad (k_o) y el esfuerzo cortante (τ). Se obtuvo CHA de cóndilos porcinos y bovinos para estudiar 3 zonas anatómicas del cóndilo en base a su capacidad de carga, las cuales se dividen en: medial (carga alta), lateral (carga moderada) y surco intercondileo (carga baja). Se cortaron probetas circulares de 20 mm de diámetro de cada zona con la ayuda de un suaje, dichas dimensiones acorde al diseño de cámaras para compresión y esfuerzo cortante.

El CHA está compuesto en su totalidad de 20 % sólido y 80 % agua, sus interacciones dan resultado a distintas capacidades mecánicas en la articulación de la rodilla en compresión, tensión y esfuerzo cortante. Dichas interacciones se midieron en 2 ensayos:

- 1.- En compresión confinada el comportamiento dependiente del flujo de fluido, se evaluó en esfuerzo de relajación en 3 zonas de 5 cóndilos porcinos y 5 cóndilos bovinos, induciendo 2 deformaciones escalonadas en cada probeta primero a 10 % después hasta 20 % a una velocidad de 0.5 mm/s, al 10 % se detuvo la compresión y se permitió relajar el esfuerzo durante 15 min, se deforma de nueva cuenta hasta 20 %, permitiendo relajar 15 min el esfuerzo.

Por otro lado en la prueba de fluencia se evaluó 1 probeta de una zona de carga considerable (medial o lateral) por cada 1 de los 5 cóndilos porcino y bovino, se aplicó una carga repentina a una velocidad de 1 mm/min, hasta alcanzar 1 MPa de esfuerzo, éste se mantuvo durante 1 hr en probetas de especie porcina y 1 hr con 15 min en probetas de CHA bovino, al cumplir el tiempo de fluencia se dejó relajar 1 hr el esfuerzo manteniendo la deformación para CHA porcino y 45 min para CHA bovino.

2.- En esfuerzo cortante se midió el comportamiento independiente del flujo, en 3 zonas (medial, lateral y surco) de 3 cóndilos porcinos y 3 bovinos, cada probeta se fijó en el punzón móvil, se empujó el punzón hasta el corte de la probeta a una velocidad de 1.25 mm/min, midiendo la fuerza necesaria para cortar la muestra y determinando la deformación en la que ocurre está ruptura, para su análisis y cálculo de esfuerzo cortante en base a su espesor de la probeta de cada zona estudiada.

Las cámaras diseñadas, construidas y utilizadas, permitieron medir la resistencia a la compresión y el esfuerzo al corte, además de calcular los parámetros de módulo agregado, permeabilidad y esfuerzo cortante para caracterizar el material.

En las pruebas de compresión se compararon datos de especie porcina y bovina, encontrando que en los parámetros de permeabilidad y módulo agregado, no difiere significativamente al 20 % de deformación en ensayos de esfuerzo de relajación, pero en ensayos de fluencia si existen diferencias significativas, alcanzando deformaciones mayores a 20 % y distintos valores de permeabilidad y módulo agregado.

En ensayos de esfuerzo cortante los valores obtenidos mostraron similitud en la deformación al corte en las zonas medial y lateral de ambas especies (44-46) % porcino y (53-56) % bovino, el surco registró capacidades de deformación de 45 % porcino y 80 % en bovino. La rigidez mostrada en las curvas de fuerza en función de la deformación mostró una relación de interacción entre colágeno tipo II y proteoglicanos, en rangos de deformación característicos de sus capas, desarrollada por sus interacciones mecánicas experimentadas *in vivo*.

Los resultados obtenidos representaron una porción de las propiedades mecánicas que se deben asimilar. Se necesita una examinación comprensiva de las relaciones entre propiedades mecánicas, morfológicas y composición bioquímica que deben ser investigadas para que en futuras investigaciones sea posible diseñar andamios con propiedades mecánicas adecuadas para reparar defectos de CHA nativo.

Índice

1.- Introducción.....	18
1.1.- Planteamiento del problema	25
1.1.1.- Requerimientos para la reparación.....	26
1.2.- Objetivos del proyecto	27
1.2.1.- Objetivo general:.....	27
1.2.2.- Justificación	28
2.- Marco teórico	29
2.1.- Articulación	29
2.2.- Rodilla.....	31
2.3.- Cartílago articular.....	34
2.4.- Mecánica de cartílago hialino articular	37
2.5.- Propiedades de los materiales.....	39
2.5.1.- Compresión	40
2.5.2.- Compresión confinada.....	43
2.5.3.- Permeabilidad.....	44
3.- Metodología	45
3.1.- Obtención y preparación de probetas de cartílago hialino articular	45
3.2.- Corte de probetas	46
3.3.- Esfuerzo de relajación	48
3.4.- Fluencia	50
3.5.- Cálculo de parámetros intrínsecos de cartílago articular	51
3.6.- Análisis estadístico	54
3.7.- Esfuerzo cortante.....	55
3.8.- Cálculo de esfuerzo cortante	57
4.- Resultados y discusión.....	58
4.1.- Compresión confinada: Esfuerzo de relajación.....	58
4.2.- Compresión confinada: Fluencia.....	62
4.3.- Análisis de compresión confinada.....	66
4.3.1.- Códilo 1 Porcino-Bovino; esfuerzo de relajación y fluencia	66
4.3.2.- Códilo 2 Porcino-Bovino; esfuerzo de relajación y fluencia	70
4.3.3.- Códilo 3 Porcino-Bovino; esfuerzo de relajación y fluencia	74

4.3.4.- Córdilo 4 Porcino-Bovino; esfuerzo de relajación y fluencia	78
4.3.5.- Córdilo 5 Porcino-Bovino; esfuerzo de relajación y fluencia	82
4.3.6.- Córdilo 6 Porcino-Bovino; esfuerzo de relajación	87
4.4.- Esfuerzo cortante.....	91
4.4.1.- Córdilo 1 Porcino-Bovino; esfuerzo cortante.....	94
4.4.2.- Córdilo 2 Porcino-Bovino; esfuerzo cortante.....	97
4.4.3.- Córdilo 3 Porcino-Bovino; esfuerzo cortante.....	99
5.- Conclusiones.....	102
6.- Perspectivas.....	103
7. - Anexo	104
7.1. - Norma ASTM F2451-05.....	105
7.2. - Norma ASTM D732.....	110
8.- Referencias	113

Índice de figuras

Figura 1. Tipos de cartílago presentes en el cuerpo humano, en círculos azules se aprecia el cartílago hialino, en amarillo el fibrocartílago y en rojo el cartílago elástico.....	19
Figura 2. Anatomía de rodilla, en donde articulan el fémur, la tibia y la rótula.....	20
Figura 3. CHA del cóndilo femoral humano saludable (A) y con osteoartritis (B).....	21
Figura 4. Artroplastia de rodilla, procedimiento de remoción de tejido nativo resecándolo, preparación de componentes artificiales sustitutos (A) y conformación de la nueva configuración de la articulación reparada (B).....	22
Figura 5. Fracaso de un andamio con propiedades mecánicas no adecuadas en la reparación de defectos de CHA. CHA degradado (A), CHA con un andamio con propiedades mecánicas no adecuadas presentando concentración de esfuerzos en la integración andamio-cartílago (B), fracaso de la integración y reparación contraproducente del CHA, guiando a más degradación (C).....	24
Figura 6. Se muestran articulaciones fibrosas, como las suturas coronales, que desempeñan un papel importante en la amortiguación de los golpes en el cráneo.....	29
Figura 7. Se muestran discos intervertebrales que son de tipo cartilaginoso, en la articulación los extremos de los huesos que se articulan están recubiertos por cartílago hialino y se conectan con el disco de fibrocartílago.....	30
Figura 8. Los huesos de articulaciones sinoviales están cubiertos por cartílago hialino, éste mismo cubre la superficie articular de los huesos con una superficie lisa y resbaladiza, pero no los mantiene unidos.....	30
Figura 9. La articulación de la rodilla soporta peso y su estabilidad depende casi por completo de los músculos, líquido sinovial, tendones y ligamentos asociados.....	31
Figura 10. Se muestra el área de contacto en las zonas del fémur al interactuar con la tibia en un estudio de simulación de elementos finitos, el color rojo representa mayor esfuerzo al contacto, el valor disminuye del rojo al gris. La imagen demuestra que las fuerzas corporales las soporta en su mayoría la zona medial seguido de la lateral.....	33
Figura 11. Estructura del cartílago articular hialino en todo su espesor, se observan sus capas (superficial, intermedia, profunda, calcificada y hueso) y estructuras de sus componentes (Colágeno tipo II, proteoglicano (compuesto por glucosaminoglicanos y ácido hialurónico) y condrocitos).....	35
Figura 12. Contenido de la composición (condrocitos, proteoglicano, colágeno tipo II y fluido) del cartílago articular hialino en todo su espesor.....	36

Figura 13. Comportamiento dependiente del tiempo y la carga, se muestra una compresión inducida (O-A-B) y mantenimiento de la deformación (B-C-D-E), el movimiento de la red entrecruzada (colágeno tipo II-proteoglicanos), es decir, la interacción del sólido y el líquido en compresión, dan resistencia a compresión al cambiar de volumen de O a B y relajan el esfuerzo cuando se mantiene la deformación de B hasta E redistribuyendo su organización y el fluido interno.....	41
Figura 14. Cartílago escalpado del cóndilo completo porcino antes (A) y después de congelar (B).....	45
Figura 15. Probetas de cartílago porcino (A) y bovino (B), se muestran las 3 zonas a estudiar: cóndilo lateral sitio de carga moderada, cóndilo medial sitio de alta carga y surco sitio de carga baja.....	46
Figura 16. Máquina de ensayo universal Shimadzu AGS-X 10 kN y sus juntas para ensayos de compresión y de tensión.....	47
Figura 17. Componentes de cámara confinada (cámara como base y pistón rígido a medida del diámetro de las probetas para su confinamiento) y su adaptación a la máquina de ensayo universal Shimadzu AGS-10-kN.....	47
Figura 18. Diagrama de compresión de cartílago articular hialino, que muestra resistencia a la compresión de O-A-B, deteniendo la compresión en B hasta una deformación determinada ϵ_0 , seguido de la fase de relajación del esfuerzo B-C-D-E permitiendo medir el esfuerzo cuando es constante en E y por consecuencia su módulo agregado con la fórmula 1 (rigidez en compresión).....	51
Figura 19. Curva de fluencia medida en la deformación que resulta de la expulsión de fluido y su resistencia a un esfuerzo inducido, después de una carga determinada se mide el comportamiento de la matriz sólida ante éste estímulo (H_a) y su velocidad de expulsión de fluido (k_0).....	52
Figura 20. Comportamiento de la permeabilidad (K) mediante una deformación (ϵ), a una velocidad (k_0) la cual puede estar inducida por una variedad de esfuerzos distintos que definen un comportamiento lineal o no lineal.....	53
Figura 21. Montaje de probetas circulares de CHA para ensayo de esfuerzo cortante (A). La probeta se fija en el punzón móvil, que desliza por el orificio céntrico, con una rondana y una tuerca para fijar la muestra (B). Posteriormente ensamblada la probeta con los aditamentos, entra la parte superior de la base (C), se ajustan los tornillos (D-E), se empuja el punzón hacia abajo, hasta el corte de la probeta a una velocidad de 1.25 mm/min (F).....	55
Figura 22. Probetas de CHA de cóndilo bovino para ensayo de esfuerzo cortante (A), probeta cortada en ensayo de esfuerzo cortante fija en el punzón fuera de la cámara (B), la probeta no sufrió cambios en su espesor (no hubo flujo de fluido intersticial) (C).....	57

Figura 23. Ajuste de curvas de fluencia empleado para el cálculo del módulo agregado y la permeabilidad.....62

Figura 24. En la parte superior se muestra el comportamiento del cóndilo 1 bovino (A), el cual difiere entre zonas y muestra dos fases de compresión y dos de relajación al esfuerzo, una al 10 % de deformación y la segunda al 20 %, mostrando distintas capacidades de resistencia a la compresión y relajación del esfuerzo. En la parte inferior (B) se observa el comportamiento del cóndilo 1 porcino de la misma manera en sus interacciones son en distintas deformaciones, pero las capacidades difieren en resistencia a la compresión y se igualan en rigidez únicamente al 20 % de deformación.....67

Figura 25. Permeabilidad del cóndilo 1 bovino mostrada en la parte superior (A) y porcino parte inferior (B) en la fase de compresión, se muestra disminución del valor de la permeabilidad al aumentar la deformación. En la parte superior se observa un comportamiento diferido de la zona lateral y el surco a diferencia de la medial y en la parte inferior se muestra diferencia de la zona medial debido a su mayor dispersión de proteoglicanos pero en deformaciones mayores al 15 % densifican con éxito y resiste al flujo de fluido.....68

Figura 26. Comportamiento de fluencia (A) y permeabilidad (B) de bovino (amarillo) y porcino (azul), la fluencia de la probeta porcina mostró menor deformación y alcanza el equilibrio en menor tiempo en comparación con la probeta bovina.....69

Figura 27. En la parte superior se muestra el comportamiento de las 3 zonas del cóndilo 2 bovino (A), mostrando diferencias de resistencia a la compresión y relajación del esfuerzo muy diferidas al 10 % de deformación y la segunda al 20 % muestra comportamientos atípicos de relajación del esfuerzo, indicando una posible alteración en su matriz del CHA. En la parte inferior se observa el comportamiento del cóndilo 2 porcino (B) de manera que en sus interacciones la zona medial muestra mayor capacidad de resistir a la compresión y mayor rigidez a diferencia del surco y lateral.....70

Figura 28. En la parte superior se muestra la permeabilidad del cóndilo 2 bovino (A) en donde las zonas medial y lateral se comportan casi lineal y el surco muestra cambio de permeabilidad debido a interacciones en la matriz del CHA, en cambio el porcino en la parte inferior (B) en la fase de compresión, se muestra disminución del valor de la permeabilidad al aumentar la deformación, notoriamente en el medial y lateral, de la misma manera que el medial bovino el surco no muestra grandes cambios de permeabilidad.....71

Figura 29. Comportamiento de fluencia (A) y permeabilidad (B) bovino y porcino, la fluencia de la probeta porcina muestra mayor deformación y expulsión de fluido durante todo el tiempo de fluencia, la probeta del bovino alcanza deformaciones bajas y se observa menor deformación y alcanza el equilibrio en menor tiempo en

comparación con la probeta porcina, posible causa de su comportamiento de permeabilidad.....73

Figura 30. El cóndilo 3 bovino parte superior (A) muestra un patrón de cargas que resisten a la compresión en diferentes valores mostrando sus capacidades dependientes de la zona, el lateral muestra mayor rigidez y resistencia a la compresión. En la parte inferior se muestra el comportamiento del porcino (B) en donde se muestra diferentes resistencias a la compresión al 10% y distinta rigidez al relajar el esfuerzo, al 20 % son distintas resistencias a la compresión en otro orden y la rigidez al relajar esfuerzo de las 3 zonas difieren no significativamente...74

Figura 31. La parte superior describe la permeabilidad del cóndilo 3 bovino (A) en donde el surco muestra un comportamiento lineal que difiere de la zona lateral y medial que muestran similitud en el comportamiento y valor de la permeabilidad, en la parte inferior (B) el cóndilo porcino muestra mayor permeabilidad en la parte de la zona lateral, en la parte del surco y medial el comportamiento es casi lineal en ambos.....75

Figura 32. La fluencia (A) y permeabilidad (B) en bovino y porcino mostradas en el diagrama, la mayor deformación la alcanza el CHA porcino, la expulsión de fluido es lenta y permite la redistribución de la matriz al permitir gran cantidad de deformación, la probeta de bovino alcanza deformaciones bajas y se observa menor deformación alcanzando el equilibrio mucho más rápido que el porcino.....77

Figura 33. En la parte superior (A) se muestra un comportamiento de resistencia a la compresión y relajación del esfuerzo normal, la zona medial muestra mayor resistencia a la compresión y mayor rigidez comparado con el lateral y el surco, en la parte inferior (B) el cóndilo porcino se distingue en sus 3 zonas, el lateral es muy resistente a la compresión comprimiendo en menos tiempo, la zona medial tiene una resistencia moderada alcanzando la compresión en menor tiempo que el lateral y la parte del surco tarda más en comprimir, es notorio éste comportamiento en su deformación al 20 % (mayor lectura de los esfuerzos).....78

Figura 34. Permeabilidad del cóndilo 4 bovino (A) y porcino (B) en donde las zonas mediales de ambas especies en cada cóndilo muestran mayor permeabilidad, el comportamiento en el superior (A) difiere en la linealidad del surco y lateral, y en el inferior (B) el medial y lateral difieren del surco, mostrando heterogeneidad de cóndilo a cóndilo.....79

Figura 35. El cóndilo 4 muestra un comportamiento de permeabilidad (B) y valores muy similares entre especies, en fluencia (A) el CHA porcino y bovino muestran distinta capacidad de deformación posiblemente debido a su distinta composición bioquímica.....81

Figura 36. El cóndilo 5 bovino (A) muestra un comportamiento normal en su compresión y relajación de esfuerzo, mostrando mayor resistencia a la compresión

en el surco, éste muestra rigidez similar a la zona medial cuando relajan el esfuerzo al mantener el 20 %, el cóndilo porcino (B) muestra resistencia a la compresión al 20 % pero en la relajación del esfuerzo manifiesta un comportamiento anormal indicando una posible alteración en la matriz, a diferencia de las zonas lateral y surco en donde sus comportamientos indican menor resistencia pero una interacción entre componentes normal, ofreciendo resistencia a la compresión y relajación de esfuerzo.....82

Figura 37. El cóndilo 5 bovino (A) que muestra sus interacciones por zonas en la parte superior tienen un comportamiento similar y sus valores casi igualan al 20%, el medial muestra mayor permeabilidad y menor resistencia a la compresión, en la parte inferior (B) el cóndilo porcino muestra distintos comportamientos de linealidad en cada zona, solamente el surco se comporta de manera lineal, el medial y lateral muestran mayor permeabilidad y mayores resistencias a la compresión.....84

Figura 38. El comportamiento de la permeabilidad (B) en bovino respalda el resultado de mayor resistencia a la compresión (A) en comparación con la alta permeabilidad y deformación del porcino, mostrando información relevante del comportamiento en la matriz lo largo de la deformación, no solo se muestra un flujo de fluido si no una capacidad de la distinta composición bioquímica entre CHA de especies.....85

Figura 39. Se muestra en la figura distintas deformaciones para estudiar el rango mayor a 20 % en respuesta de CHA bovino (A) y porcino (B) en sus distintas zonas de carga medial, lateral y surco, mostrando distintos comportamientos de resistencia a la compresión, relajación del esfuerzo y rigidez en la matriz del CHA.....87

Figura 40. Se muestra en la figura distintas permeabilidades en respuesta de compresión de CHA bovino y porcino en sus distintas zonas de carga medial, lateral y surco, en la parte superior se observa el comportamiento del cóndilo bovino (A) con permeabilidades muy altas y su disminución en base a un comportamiento lineal en deformaciones arriba del 30 %, de la misma manera el cóndilo porcino mostrado en la parte inferior (B) pero a permeabilidades más bajas, llegan a resistencias de flujo de fluido a partir de 15 % con comportamientos lineales y normales de CHA en las gráficas de esfuerzo de relajación.....89

Figura 41. Esfuerzo cortante del cóndilo 1 en distintas zonas (medial, lateral y surco) de especie porcina comparada con la bovina, en la parte superior (A) se aprecian distintos comportamientos dependiendo de la deformación experimentada, indicando rigidez de la matriz sólida (colágeno tipo II y proteoglicano entrecruzado), se muestran discontinuidades de fuerza necesaria para deformar la matriz, mostrando posibles alteraciones en la zona medial porcina, de la misma manera en la parte inferior (B) se muestra el comportamiento bovino, la zona medial muestra una capacidad mínima de resistencia al corte, cuando es una zona de carga alta indicando posible deterioro de matriz sólida, en comparación con la rigidez de la

zona lateral y surco, mostrando la capacidad de la matriz a estímulos mecánicos en donde no interactúa el flujo de fluido.....94

Figura 42. Esfuerzo cortante del cóndilo 2 en la parte superior (A) muestra el comportamiento del cóndilo porcino, el comportamiento no es lineal, sin embargo muestra resistencia a deformarse, la variación indica distintas interacciones en las capas del CHA, la deformación hasta la ruptura coincide en deformaciones cercanas al 43 %, en la parte inferior (B) se observa el comportamiento de las 3 zonas del cóndilo bovino que muestran distintas capacidades de resistencia al corte, indicando que la rigidez de cada zona, la zona lateral muestra mayor rigidez y la zona del surco menor rigidez debido a que en cierta deformación en la zona lateral incrementa la demanda de fuerza y en el surco se disminuye hasta su ruptura.....97

Figura 43. El esfuerzo cortante medido en el cóndilo porcino que se muestra en la parte superior (A) muestra un valor de fuerza muy alto necesaria para deformar, indicando mayor resistencia al corte en probetas de mayor espesor, la zona medial y lateral difieren de rigidez posiblemente a alguna alteración en la zona medial, a mayor uso posiblemente mayor desgaste presenta, el cóndilo bovino 3 parte inferior (B) muestra una linealidad en el surco, producto de su conformación de la matriz, además de tener capacidad de mayor deformación, su espesor es principal factor en éste comportamiento, a diferencia del medial repite un patrón de alteración en su matriz pues sus lecturas han sido bajas en cada cóndilo, cuando en compresión que es una interacción dependiente del flujo, muestra comportamientos predominantemente altos.....99

Figura 44. Red compuesta (colágeno II-proteoglicano) y sus interacciones entre el gel de polisacáridos (proteoglicanos y agua absorbida por los mismos) y la red de colágeno II (entrecruzada con moléculas de proteoglicano por fuerzas iónicas), que experimentan estímulos mecánicos de tensión, compresión y esfuerzo cortante, disipando esfuerzos gracias a los elementos en conjunto de la red compuesta....101

Índice de tablas

Tabla 1. Tipos de cartílago, características que los distinguen y en donde se localizan en el cuerpo humano.....	18
Tabla 2. Osteoartritis enfermedad degenerativa del cartílago, tipos y causas de la misma.....	21
Tabla 3. Estrategias de tratamiento de CHA.....	25
Tabla 4. Espesor de probetas CHA de 5 cóndilos bovinos y 5 porcinos.....	48
Tabla 5. Espesores de probetas de CHA del sexto cóndilo bovino y porcino.....	49
Tabla 6. Espesor de probetas de CHA de las zonas de carga consideradas para fluencia.....	50
Tabla 7. Espesor de CHA de 3 cóndilos bovino y porcino en sus distintas zonas de carga (medial, lateral y surco).....	56
Tabla 8. Resultados del cálculo de parámetros del CHA porcino de 5 cóndilos, obtenidos mediante ensayo de esfuerzo de relajación, en donde se enlistan los siguientes valores: del coeficiente difusivo de permeabilidad (k_0), el modulo agregado (H_a), el coeficiente de linealidad de la permeabilidad (M) (adimensional), el tiempo que tarda en comprimir del (10-20) % (t_0), su espesor (h) y el promedio de las 5 medidas con su desviación estándar.....	59
Tabla 9. Resultados del cálculo de parámetros del CHA bovino de 5 cóndilos, obtenidos mediante ensayo de esfuerzo de relajación, en donde se enlistan los siguientes valores: del coeficiente difusivo de permeabilidad (k_0), el modulo agregado (H_a), el coeficiente de linealidad de la permeabilidad (M) (adimensional), el tiempo que tarda en comprimir del (10-20) % (t_0), su espesor (h), y el promedio de las 5 medidas con su desviación estándar.....	60
Tabla 10. Datos obtenidos por Athanasiou de bovino, comparado con los resultados obtenidos en este trabajo, el cual reporta los valores medidos de las zonas anatómicas (medial, lateral y surco): módulo agregado (H_a), permeabilidad (k_0), espesor (h) y el valor del promedio con su desviación estándar de cóndilos caracterizados mediante la teoría de Van C. Mow.....	61
Tabla 11. Resultados del cálculo de parámetros de 10 probetas 5 de cada cóndilo porcino, obtenidos mediante ensayo de fluencia, en donde se enlistan los siguientes valores: el coeficiente difusivo de permeabilidad (k_0), el módulo agregado (H_a), el coeficiente de linealidad de la permeabilidad (M) (adimensional), deformación inducida por el tiempo a 1 MPa (ϵ_0), su espesor (h) y el promedio de las 5 medidas con su desviación estándar.....	63

Tabla 12. Resultados del cálculo de parámetros de 10 probetas 5 de cada cóndilo bovino, obtenidos mediante ensayo de fluencia, en donde se enlistan los siguientes valores: el coeficiente difusivo de permeabilidad (k_0), el módulo agregado (H_a), el coeficiente de linealidad de la permeabilidad (M) (adimensional), deformación inducida por el tiempo a 1 MPa (ϵ_0), su espesor (h) y el promedio de las 5 medidas con su desviación estándar.....63

Tabla 13. Datos comparados de módulo agregado (H_a) y permeabilidad (k_0) encontrados en la literatura de especies bovino y porcino, parámetros obtenidos mediante la teoría bifásica de Van C. Mow, dando como resultado diferencias no significativas y alentadoras al uso de bovino y porcino como guía estándar en pruebas mecánicas de compresión mediante la norma ASTM F2451-05, para guiar al diseño de andamios adecuados que ayuden a reparar CHA.....64

Tabla 14. Resultado del ensayo de esfuerzo de corte estático en 3 cóndilos porcinos, se midieron 3 zonas de CHA de cada cóndilo, fuerza necesaria para cortar la muestra (N), deformación hasta su ruptura (ϵ) y el esfuerzo cortante en función del espesor (τ) y el promedio con su desviación estándar.....91

Tabla 15. Resultado del ensayo de esfuerzo de corte estático en 3 cóndilos bovinos, se midieron 3 zonas de CHA de cada cóndilo, fuerza necesaria para cortar la muestra (N), deformación hasta su ruptura (ϵ) y el esfuerzo cortante en función del espesor (τ) y el promedio con su desviación estándar.....92

1.- Introducción

Las articulaciones son mecanismos que proporcionan movimiento entre los segmentos esqueléticos, es decir, hueso con hueso, se encuentran en todo el cuerpo humano, por ejemplo, hombro, muñeca, columna, cadera, rodilla, entre otros. Esto permite el movimiento del cuerpo humano en las actividades de la vida diaria¹. Todas las articulaciones humanas sufren constantes fricciones en las superficies debido a las cargas que actúan sobre ellas.

El cartílago es un tejido conectivo blando que se compone de condrocitos y una matriz extracelular altamente especializada. Tres tipos principales de tejidos cartilagosos están presentes en el cuerpo: cartílago hialino, cartílago elástico y fibrocartílago (ver Tabla 1).

Tabla 1. Tipos de cartílago, características que los distinguen y en donde se localizan en el cuerpo humano².

Tipo de cartílago	Características	Localización
Cartílago hialino	Fibras de colágeno de tipo II en la matriz	Extremos de los huesos articulares, nariz, laringe, tráquea, bronquios, extremos ventrales de las costillas
Cartílago elástico	Fibras de colágeno de tipo II, una gran cantidad de fibras de elastina dispersas en la matriz	Pabellón auricular, paredes del conducto auditivo, trompa de Eustaquio, epiglotis, cartílago cuneiforme de la laringe
Fibrocartílago	Fibras de colágeno densas y gruesas de tipo I	Discos intervertebrales, meniscos, sínfisis púbica, inserción de algunos tendones

Estos tejidos se distinguen por su matriz extracelular y la composición bioquímica, principalmente en el tipo de colágeno, el tipo I es una fibra que experimenta tensión mecánica y el tipo II son fibrillas altamente hidratadas capaces de deformarse en compresión disipando tensiones, la fibrilla de colágeno tipo II contiene de (50-100) % más agua que una fibra de tipo I³, el colágeno tipo II contiene abundantes aminoácidos hidrofílicos a lo largo de la molécula en comparación con el tipo I, ésta característica química determina el contenido de agua en la molécula de colágeno³, resultando distintas propiedades biomecánicas de los diferentes tipos de cartílago requeridos por sus funciones en diversas partes del cuerpo (ver Figura 1).

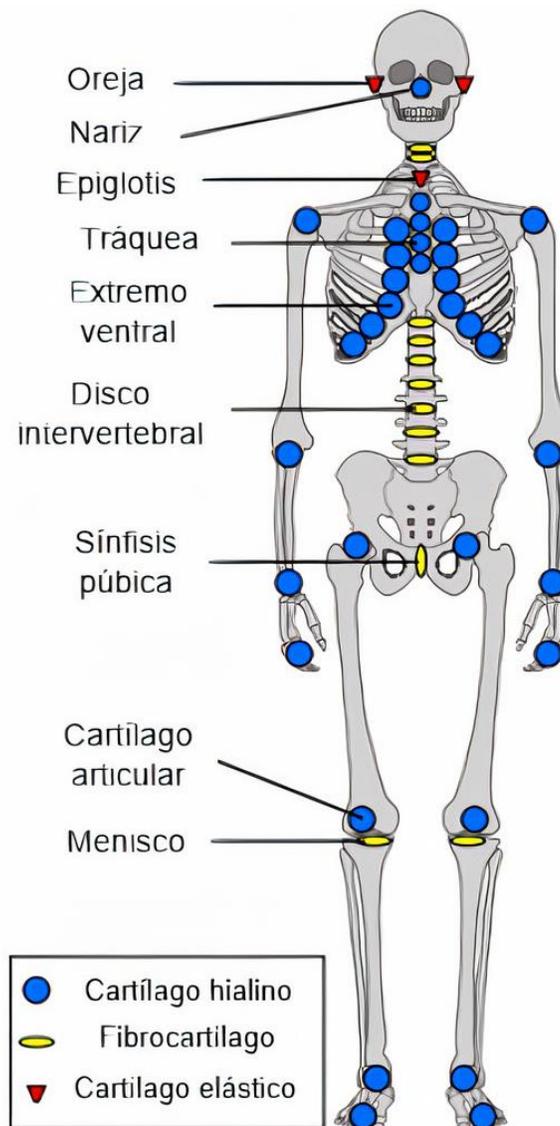


Figura 1. Tipos de cartílago presentes en el cuerpo humano, en círculos azules se aprecia el cartílago hialino, en amarillo el fibrocartilago y en rojo el cartílago elástico⁴.

El cartílago hialino más común, y el más estudiado, es el cartílago articular. Este tejido cubre las superficies articulares de los huesos dentro de las articulaciones sinoviales, por ejemplo, las superficies de la tibia, el fémur y la rótula de la articulación de la rodilla⁵.

La rodilla es una de las regiones de carga del cuerpo, una articulación compleja que consta de tres componentes fémur, tibia y rótula (como se ilustra en la Figura 2). Tiene una configuración relativamente inestable en comparación a las articulaciones sinoviales de cadera y hombro de configuración esférica, por lo tanto, es común que sufra algún tipo de lesión a lo largo de la vida⁵.

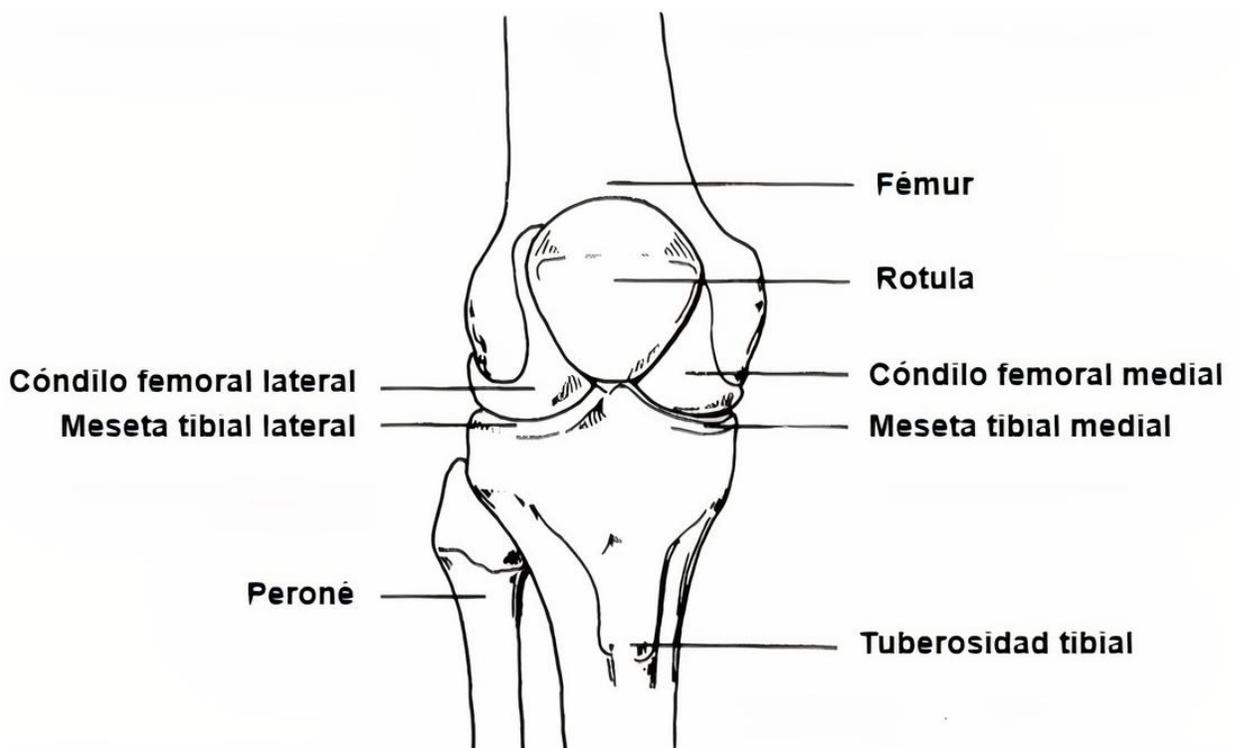


Figura 2. Anatomía de rodilla, en donde articulan el fémur, la tibia y la rótula⁵.

El cartílago dañado puede ser la causa y sitio principal de incomodidad y dolor en la rodilla, el daño puede ser causado por diversas razones, por ejemplo una lesión, un traumatismo o una enfermedad, como la osteoartritis (ver Tabla 2)⁷⁻¹⁰.

La osteoartritis induce la degradación (como se muestra en la Figura 3) y falla del cartílago hialino articular (CHA), puede ser resultado de un desequilibrio o alteración en la síntesis de matriz extracelular, es decir, material sintetizado por la célula, o una fuerza que rebasa la capacidad de carga de la matriz extracelular del cartílago¹¹.

Tabla 2. Osteoartritis enfermedad degenerativa del cartílago, tipos y causas de la misma¹¹.

Enfermedad	Tipos	Repercusión	Causa
Osteoartritis	Primaria	Ocurre principalmente en personas mayores	El uso repetitivo de las articulaciones durante cinco o seis décadas puede provocar la degeneración del cartílago articular
	Secundaria	Tiende a aparecer a una edad temprana	Traumatismo (lesiones deportivas o accidentes), trastorno genético u hormonal y anomalías del desarrollo de las articulaciones

La osteoartritis es la enfermedad más común de las articulaciones en todo el mundo, siendo la rodilla la articulación del cuerpo más comúnmente afectada, se caracteriza por dolor crónico y dificultad de movimiento. La osteoartritis de rodilla representa casi cuatro quintas partes en todo el mundo y aumenta con la obesidad y la edad¹³.

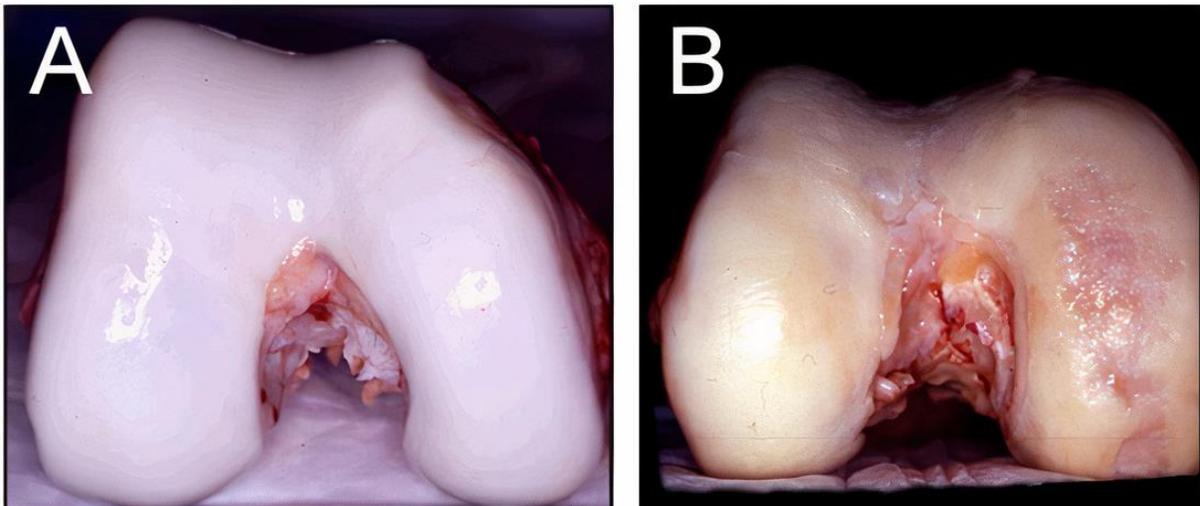


Figura 3. CHA del cóndilo femoral humano saludable (A) y con osteoartritis (B)¹⁴.

Hasta ahora la osteoartritis de rodilla es incurable excepto con artroplastia, es decir, reemplazo de rodilla, la cual se trata de una resuperficialización del cartílago (como se ilustra en la Figura 4).

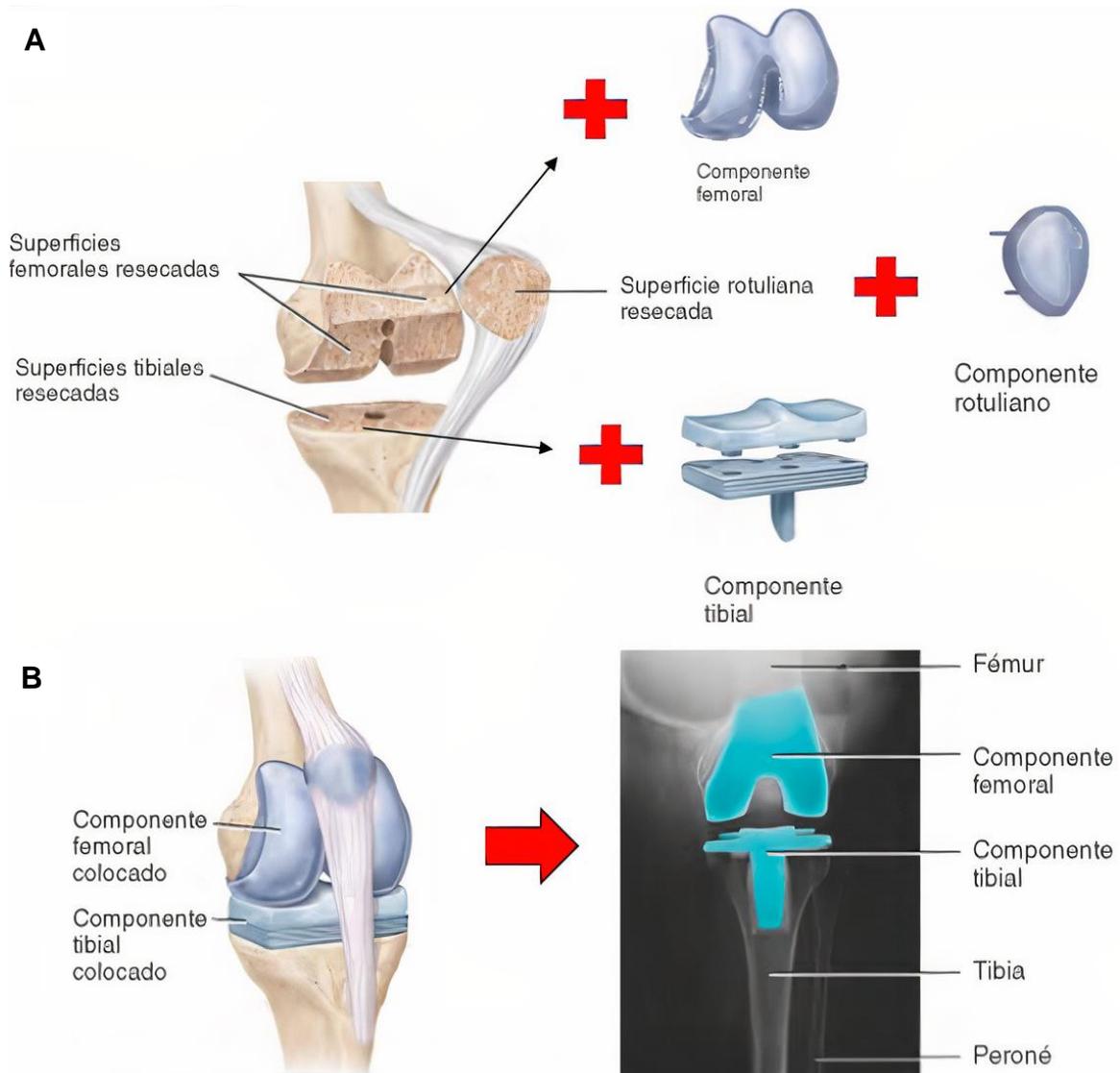


Figura 4. Artroplastia de rodilla, procedimiento de remoción de tejido nativo rese­cándolo, preparación de componentes artificiales sustitutos (A) y conformación de la nueva configuración de la articulación reparada (B) ¹⁵.

En el reemplazo total de la rodilla, se reseca el cartílago dañado dependiendo la zona, ya sea fémur, tibia o rótula. Se moldea el componente para que se adapte geométricamente y fije en el sitio correspondiente con metal y cemento.

Actualmente los investigadores trabajan sobre nuevas maneras de estimular el crecimiento del hueso alrededor del área del implante y la mejora del cemento óseo¹⁵.

Es necesario comprender los movimientos de la rodilla a profundidad para conocer causas y efectos en los componentes de la articulación. La carga mecánica es factor en el desarrollo y desempeño del cartílago, también en la degeneración del cartílago. Su comportamiento mecánico no ha sido claramente delimitado con precisión y resultados reproducibles^{16, 17}.

La biomecánica estudia las fuerzas que actúan sobre los seres vivos. El desarrollo de modelos matemáticos, su aplicación y su análisis en el estudio de órganos y tejidos, son pieza clave para describir con precisión el comportamiento mecánico de éstos.

Las interpretaciones de la solución matemática contribuyen a los fundamentos y descripción de las características de interacción mecánica en la biología. En la búsqueda de regeneración de los tejidos dañados, la ingeniería de órganos y tejidos ha enfocado sus esfuerzos, en obtener constructos de diferentes biomateriales que puedan ayudar en la regeneración¹⁸.

La arquitectura del CHA a escala micrométrica, es responsable del desempeño en la biomecánica del tejido. Se cree que la anisotropía mecánica está dominada por la organización estructural de las fibras de colágeno en diversas capas en su espesor. Es importante conocer las propiedades mecánicas y físicas fundamentales de los tejidos, como el CHA, lo que nos permitirá ayudar en su regeneración^{19, 20}.

Por otra parte, el uso de biomateriales obtenidos para el uso ingeniería de órganos y tejidos, puede presentar problemas en la integración del andamio-cartílago.

Se han realizado diversos intentos para abordar este desafío mediante la manipulación de la composición celular y la obtención de diferentes biomateriales de apoyo, que se pueda usar como un andamio en ingeniería de Tejidos. Un andamio es una estructura 3D, de biomateriales (naturales o sintéticos), que se aplica en el lugar del defecto del cartílago, funcionalizado (que lleva células sembradas) o no.

Los biomateriales (andamios) obtenidos con propiedades mecánicas no adecuadas, en comparación con el CHA nativo, pueden inducir a una concentración de esfuerzos en la unión y al fracaso de la integración del tejido (ver Figura 5)¹⁶.

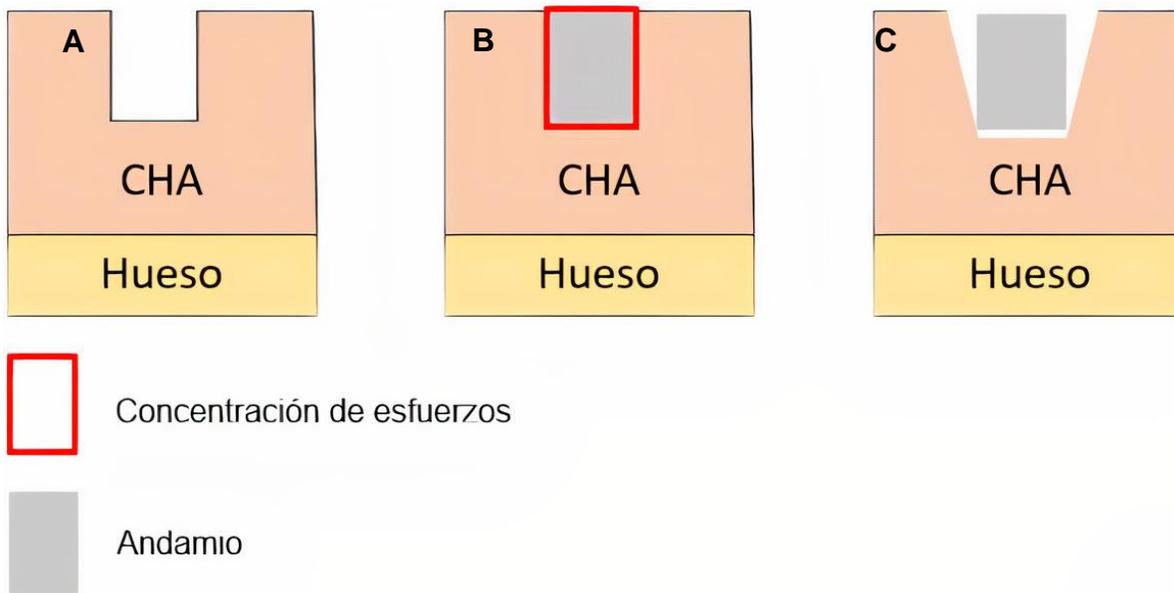


Figura 5. Fracaso de un andamio con propiedades mecánicas no adecuadas en la reparación de defectos de CHA. CHA degradado (A), CHA con un andamio con propiedades mecánicas no adecuadas presentando concentración de esfuerzos en la integración andamio-cartílago (B), fracaso de la integración y reparación contraproducente del CHA, guiando a más degradación (C).

Un material que imite al tejido nativo, proporcionaría una arquitectura y distribución uniforme óptima de carga mecánica, para desarrollar y mantener la actividad celular normal de cartílago sano. Desde la perspectiva de la ingeniería de órganos y tejidos, un primer paso para el diseño de un andamio con potencial a regenerar un órgano o tejido, es demostrar las características de las relaciones propiedad, función y estructura para el CHA.

Específicamente Xin L. Lu y colaboradores en el 2008 mencionaron centrar investigaciones en determinar las propiedades mecánicas, medir la composición bioquímica de CHA, especialmente cuantificar los componentes del material o matriz sólida y fase líquida, además estudiar la correlación entre sus composiciones bioquímicas y propiedades mecánicas²¹.

La caracterización mecánica del CHA es vital para su comprensión. La Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) y la Sociedad Internacional de Reparación del Cartílago (ICRS) han publicado documentos de orientación, cada uno de los cuales contiene una sección sobre pruebas mecánicas en CHA y la interpretación de los resultados de éstas^{22, 23}.

1.1.- Planteamiento del problema

Una vez que el cartílago hialino articular está dañado, la reparación intrínseca es difícil por su deficiencia en capacidad regenerativa. Los métodos de reparación de cartílago como el desbridamiento artroscópico, métodos de estimulación de la médula ósea como la microfractura, la implantación de condrocitos autólogos y la implantación de aloinjerto o autoinjerto de cartílago, no pueden lograr una regeneración ideal de cartílago articular nativo²⁴. Las estrategias de tratamiento clínico actuales no brindan soluciones a largo plazo para la regeneración de cartílago articular (ver Tabla 3), las técnicas de ingeniería de órganos y tejidos podrían ser la clave²⁵⁻²⁸.

Tabla 3. Estrategias de tratamiento de CHA.

Estrategias terapéuticas	Categoría	Terapia específica	Limitaciones
Enfoques no farmacológicos	Enfoques no farmacológicos	Control del peso; kinesioterapia; fisioterapia; autogestión y educación	Paliativo
	Tratamientos farmacológicos	Antiinflamatorios no esteroideos (AINE); paracetamol; carotenoides	Efectos secundarios graves (como lesiones en los sistemas renal, cardiovascular y gastrointestinal); paliativo
Estrategias quirúrgicas	Técnicas artroscópicas	Desbridamiento articular	Efecto no ideal a largo plazo y alta posibilidad de recaída
		Artroplastia total de la articulación	Un tratamiento terminal invasivo
	Estimulación de la médula ósea	Microfractura	El tejido regenerado suele ser fibrocartílago
	Implantación	Implantación de condrocito autólogo	Largo tiempo de recuperación y formación de tejido fibroso
		Autoinjertos	Disponibilidad limitada de injertos
		Aloinjertos	Rechazo inmunológico

1.1.1.- Requerimientos para la reparación

Para que la ingeniería de tejidos sea exitosa, los andamios deben presentar resistencia mecánica apropiada y similar a la nativa, para soportar la carga después de la implantación y durante la rehabilitación²⁹⁻³¹. El cartílago nativo y el implante deben tener un comportamiento mecánico similar, es decir el implante no debe diferir del comportamiento del tejido circundante a reparar³².

Debido a que la diferencia de propiedades mecánicas concentran esfuerzos en la unión y como consecuencia detiene la formación de cartílago hialino articular nuevo. La integración del implante y regeneración del cartílago natural representa un desafío único porque el cartílago es heterogéneo, viscoelástico, no lineal y anisotrópico³³.

Independientemente del tejido biológico, los requisitos críticos de cualquier andamio por su utilidad en la aplicación de ingeniería de tejidos son:

- a) Biocompatibilidad con el huésped.
- b) Biodegradabilidad para permitir su reemplazo con tejido nativo.
- c) Porosidad/permeabilidad al oxígeno.
- d) Difusión e intercambio de nutrientes y desechos.
- e) Propiedades mecánicas adecuadas al tejido a reparar.

Con respecto a propiedades mecánicas adecuadas, intentar diseñar cartílago articular imitando su comportamiento mecánico anisotrópico es uno de los mayores desafíos en Ingeniería de Tejidos³⁴.

1.2.- Objetivos del proyecto

1.2.1.- Objetivo general:

Encontrar la relación estructura–función de cartílago articular hialino, en especies bovino y porcino a través del estudio de sus propiedades mecánicas, empleando las Normas ASTM F2451-05 y ASTM D732²³.

1.2.1.1.- Metas particulares:

- Caracterizar propiedades mecánicas mediante compresión confinada y esfuerzo cortante:
 1. El módulo agregado (H_a).
 2. Permeabilidad (k) de la fase sólida.
 3. Módulo cortante estático (τ).

1.2.2.- Justificación

Existen muy pocos trabajos sobre CHA que proporcionen una mayor comprensión de la relación estructura-función del tejido en la articulación. Solo se han reportado 2 trabajos que sirven como ejemplos de evaluación multifuncional de construcciones de cartílago²².

Idealmente, las pruebas mecánicas y con animales deben combinarse. Los estudios en animales son ideales para evaluar las respuestas biológicas, tamaño de la lesión y ubicación (ubicación análoga al uso previsto en humanos)³⁵. El cartílago de los animales puede ser un buen material para la validación de ensayos mecánicos que permitan la caracterización del tejido.

En el presente trabajo las especies bovina y porcina fueron elegidas como modelo animal de experimentación, debido a que su CHA, es comparable en espesor, permeabilidad y módulo agregado con cartílago humano, las diferencias no son estadísticamente significativas^{5, 36}. No hay muchos estudios relacionados con las propiedades mecánicas del cartílago porcino, el cual puede servir como estándar para evaluaciones mecánicas^{11, 37, 38}. En este trabajo se presenta la caracterización mecánica de cartílagos bovino y porcino.

2.- Marco teórico

2.1.- Articulación

La articulación es el elemento de unión entre dos o más huesos. Los tres tipos de articulaciones que existen en el cuerpo humano, se conocen como fibrosas, cartilagosas y sinoviales. Las articulaciones fibrosas, son aquellas en las que las superficies óseas tienen muy poco movimiento entre sí, por ejemplo, son las uniones de huesos en el cráneo (ver Figura 6).

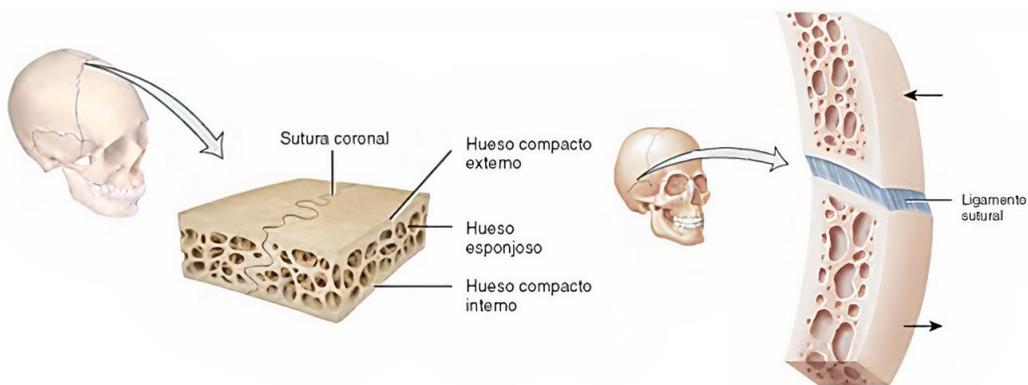


Figura 6. Se muestran articulaciones fibrosas, como las suturas coronales, que desempeñan un papel importante en la amortiguación de los golpes en el cráneo¹⁵.

Las articulaciones cartilagosas, son aquellas en las que las superficies óseas tienen cierto movimiento relativo, por ejemplo, los discos intervertebrales de la columna (ver Figura 7).

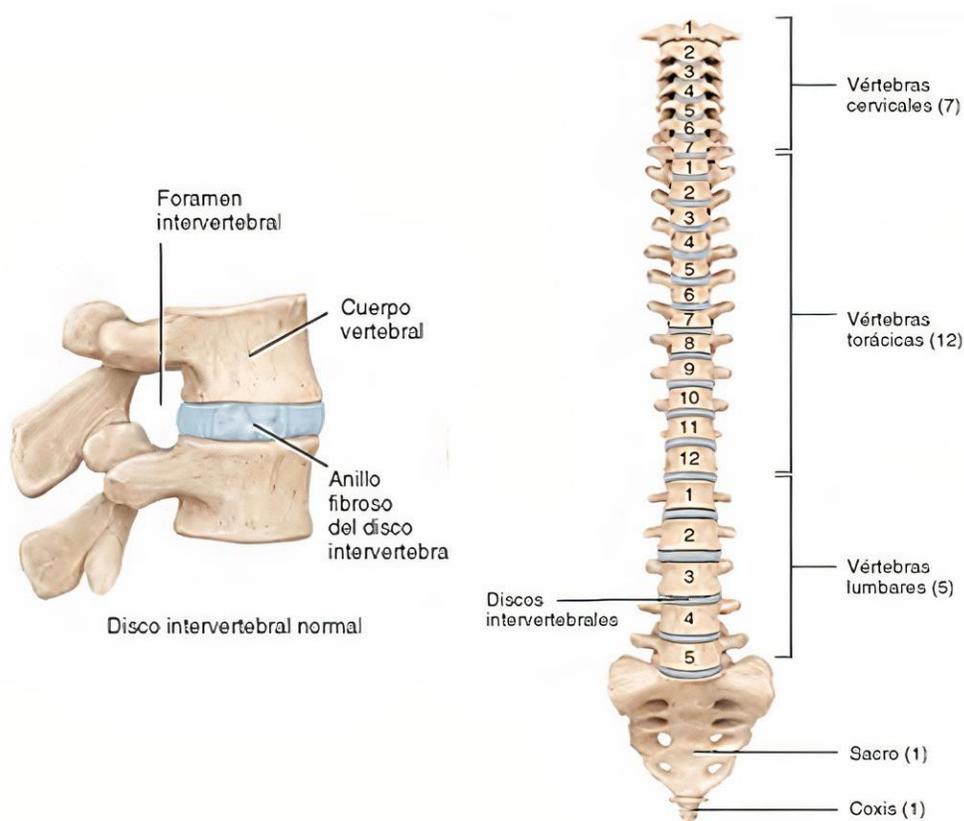


Figura 7. Se muestran discos intervertebrales que son de tipo cartilaginoso, en la articulación los extremos de los huesos que se articulan están recubiertos por cartílago hialino y se conectan con el disco de fibrocartílago¹⁵.

Las articulaciones sinoviales se diferencian de las articulaciones fibrosas o cartilaginosas en permitir un amplio rango de movimiento.

Algunos ejemplos de este tipo de articulación son el hombro, el codo, la cadera, la rodilla y el tobillo (ver Figura 8) ^{5, 15}.

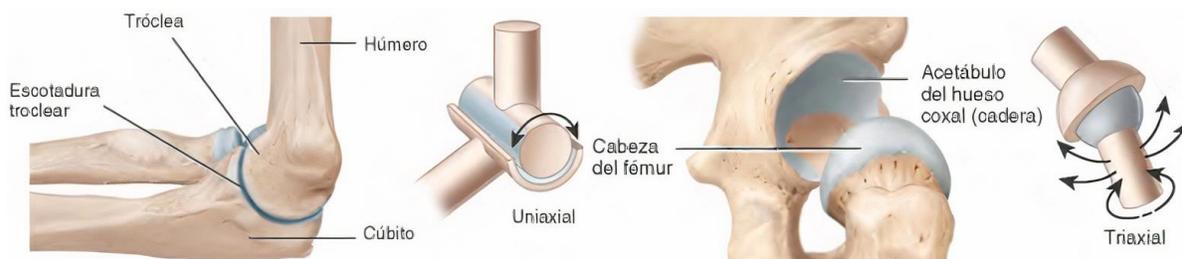


Figura 8. Los huesos de articulaciones sinoviales están cubiertos por cartílago hialino, éste mismo cubre la superficie articular de los huesos con una superficie lisa y resbaladiza, pero no los mantiene unidos¹⁵.

2.2.- Rodilla

La rodilla es la articulación de soporte de peso más grande y compleja del cuerpo humano. Por ende, la rodilla es una de las articulaciones más vulnerables del cuerpo. Durante las actividades diarias, se pueden transmitir fuerzas del orden de 2 a 5 veces el peso corporal a través de la rodilla, de acuerdo a los análisis de cuerpo rígido (huesos), cálculos que no tiene en cuenta el efecto de deformación de tejidos blandos de la rodilla como lo es el HA. La articulación conecta el fémur con la tibia y la rótula con el fémur (ver Figura 9) ^{15, 39-41}.

Las fuerzas de contacto articular entre las superficies articulares se transmiten y redistribuyen al hueso a través de CHA que recubre los extremos de los huesos. La estructura de la rodilla contiene pequeños sacos llenos de líquido sinovial y grasa que amortiguan los puntos de presión y disminuyen la fricción entre los huesos y el CHA⁴¹⁻⁴³.

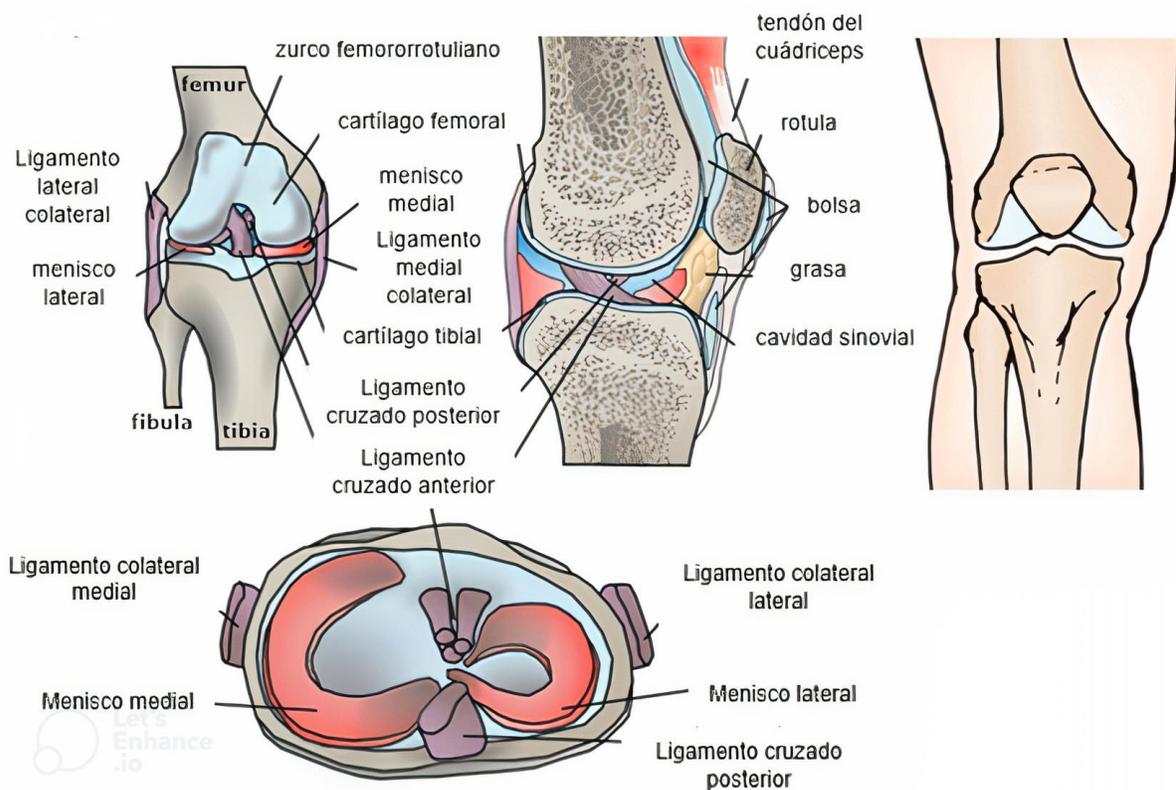


Figura 9. La articulación de la rodilla soporta peso y su estabilidad depende casi por completo de los músculos, líquido sinovial, tendones y ligamentos asociados^{40, 41}.

Los dos materiales comunes en todas las articulaciones sinoviales como la rodilla, son líquido sinovial (una solución macromolecular concentrada de plasma sanguíneo y ácido hialurónico 3.5 mg/ml) y cartílago hialino articular, el cual es un sólido viscoelástico permeable⁴⁴.

Los tejidos como el cartílago, menisco, ligamentos y tendones se endurecen por deformación, de modo que, a mayor alargamiento, su rigidez es mayor; son viscoelásticos, es decir, el alargamiento depende del tiempo de carga y hay una recuperación a su forma original dependiente del tiempo.

Durante la flexión de rodilla las superficies del CHA pueden deformarse bajo compresión de 0.1 a 0.5 mm. El movimiento de la rodilla ocurre simultáneamente en tres planos: frontal, sagital, y transversal. Domina el movimiento en el plano sagital, el movimiento en este plano desde la extensión completa hasta la flexión completa de la rodilla es típicamente de 3° de hiperextensión (-3° de flexión) a 155° de flexión. En la flexión máxima, el CHA femoral posterior medial impacta el borde posterior del menisco, el cóndilo femoral medial es más largo que el cóndilo lateral, por eso su papel en la flexión máxima siempre es el de mayor carga.

Una rodilla saludable, es un sistema de almohadillas eficiente, lo que evita una alta concentración de esfuerzos en sus componentes. Se estima que para un ser humano, la articulación de la rodilla puede experimentar 2 millones de ciclos de carga por año⁴⁵, que se distribuye a cerca de 5480 ciclos de marcha diarios⁴⁶. Aunque las articulaciones sinoviales están sujetas a millones de ciclos de carga de altas compresiones, las superficies de los cartílagos articulares tienen el potencial de permanecer intactas y funcionales, con coeficientes extraordinariamente bajos de índices de fricción y desgaste durante la vida de un individuo^{5, 47-49}.

El ser humano promedio tiene una masa de 71 kg y un área de contacto promedio entre fémur y tibia en la rodilla que varía de 765 mm² a 1150 mm². Un ejemplo del área de contacto se muestra en la Figura 10 en un estudio de simulación de elementos finitos⁵⁰. La presión depende del área de contacto en el CHA que recubre los extremos del fémur y la tibia, cuyo comportamiento viscoelástico del CHA depende de la carga y el tiempo, el comportamiento mecánico depende del cada componente de la rodilla en la actividad física⁵⁰.

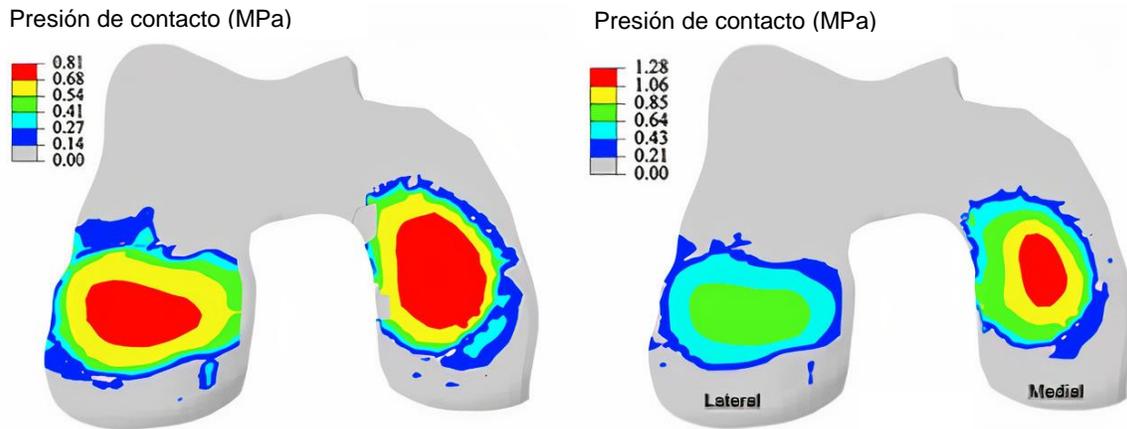


Figura 10. Se muestra el área de contacto en las zonas del fémur al interactuar con la tibia en un estudio de simulación de elementos finitos, el color rojo representa mayor esfuerzo al contacto, el valor disminuye del rojo al gris. La imagen demuestra que las fuerzas corporales las soporta en su mayoría la zona medial seguido de la lateral⁵⁰.

Al caminar se estiman fuerzas en la rodilla de 3 a 4 veces el peso corporal, es decir, las fuerzas máximas en la articulación se han determinado inmediatamente después de un apoyo simple al iniciar la caminata a velocidad normal y en el ascenso y descenso de escaleras⁵¹.

Esta fuerza se explica debido a la fuerza de gravedad, presión ejercida por el golpe del talón, amplitud del ángulo experimentado en la articulación y velocidad de la actividad que aumenta la presión en la articulación, a mayor velocidad menor área de contacto (debido a que es instantánea), esta área depende del tiempo de contacto, a mayor tiempo de contacto aumenta el área y disminuye la presión⁵¹. Durante este período, el sujeto de la prueba caminó sobre la pista de prueba y en las pruebas exitosas, solo su pie izquierdo hizo contacto con un dinamómetro de placa de fuerza de seis canales para registrar las acciones de fuerza externas relevantes⁵¹.

Se sugiere que un adulto saludable debe dar aproximadamente 10 000 pasos diarios para mantener articulaciones activas y sanas. Para entender el comportamiento de la rodilla, es importante el estudio de las propiedades mecánicas de cada componente de la articulación³⁷.

2.3.- Cartílago articular

Las articulaciones sinoviales, como la rodilla, se componen de CHA y espacio intraarticular lleno de líquido sinovial. Éste tejido está prácticamente aislado del resto del cuerpo ya que no tiene irrigación sanguínea ni nervios. El tejido es morfológicamente complejo, con una disposición fibrosa estructural única, metabólicamente activo y reológicamente complejo.

El CHA es un tejido anisotrópico hidratado compuesto principalmente de colágeno tipo II, moléculas llamadas proteoglicanos, condrocitos y agua, cubre los extremos de los huesos y actúa como una superficie lubricada que experimenta carga mecánica durante el movimiento^{20, 44, 45, 52}.

Es un tejido blando, que se hincha con agua, es decir, un medio bifásico 80 % líquido y 20 % sólido, como un hidrogel poroso y permeable³⁴. Los proteoglicanos siempre buscan su máximo dominio solvente, en el CHA esto es mediado por el gran volumen de agua intersticial. Al ser hidrofílicos están altamente cargados electrostáticamente, debido a esta carga la matriz absorbe líquido, hinchando el tejido para mantener el equilibrio. La hinchazón se equilibra con la restricción elástica de la red de colágeno, los proteoglicanos impiden el flujo del agua, y resisten las cargas compresión^{10, 53}.

La capacidad del CHA para transmitir y recibir cargas depende de su estructura e integridad, es decir, interacción con el medio⁵⁴. Cuenta con capacidades mecánicas esenciales: resistencia al desgaste, soporte de carga y absorción de impactos. La vida útil funcional del CHA es de cuatro a seis décadas, según la genética y el estilo de vida³³. El CHA es estructuralmente heterogéneo y posee anisotropía para resistir altas cargas de compresión y cizallamiento^{21, 44, 55}. Las propiedades materiales del cartílago se pueden describir como, anisotropía, y no lineal¹⁰.

Se distinguen 4 capas en el CHA:

- A) Capa superficial (10-20) %
- B) Capa media (40-60) %
- C) Capa profunda (20-50) %
- D) Capa calcificada y hueso

Las zonas se diferencian por su composición de contenido de proteoglicanos y colágeno y por otro lado por la orientación de las fibras de colágeno y cantidad de células (ver Figura 11) ^{29, 55, 56}.

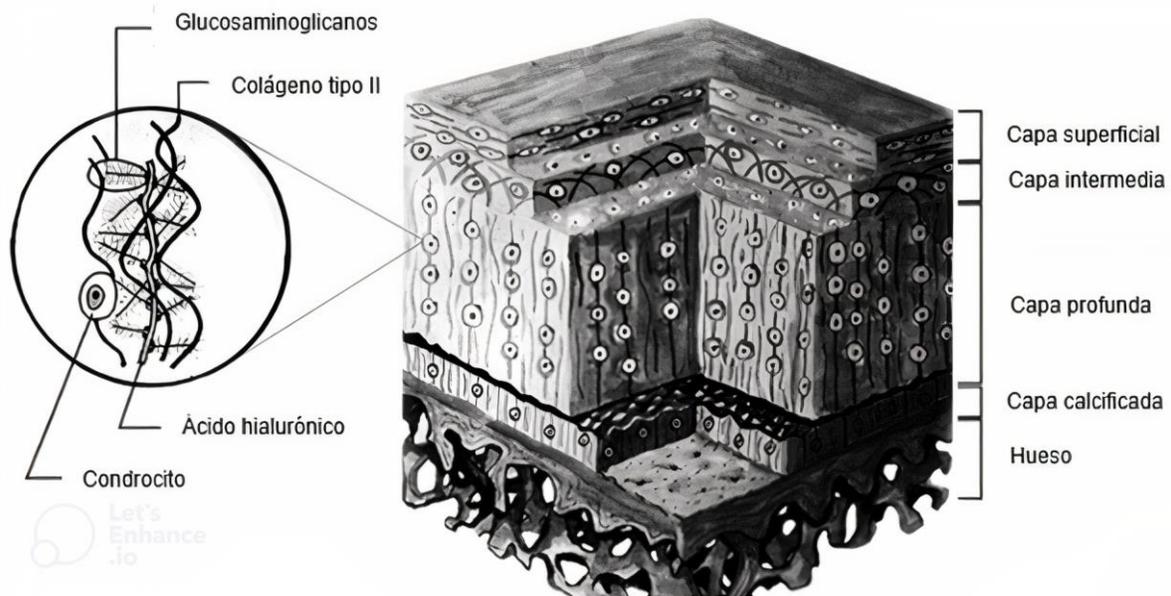


Figura 11. Estructura del cartílago articular hialino en todo su espesor, se observan sus capas (superficial, intermedia, profunda, calcificada y hueso) y estructuras de sus componentes (Colágeno tipo II, proteoglicano (compuesto por glucosaminoglicanos y ácido hialurónico) y condrocitos)²⁴.

La composición específica del cartílago varía con la edad de la articulación y la profundidad de la misma, así como con el tipo específico de articulación. En el CHA adulto sano, el contenido de líquido constituye aproximadamente el 85 % de la masa total en peso húmedo y luego disminuye de manera casi lineal a alrededor de 70 % en el hueso subcondral. La carga mecánica durante el crecimiento influye en la composición de la matriz y su estructura. Cuando el hueso deja de crecer, el cartílago también lo hace.

El mayor componente de la matriz sólida orgánica es el colágeno. Fibras de colágeno incrustadas en un gel de moléculas de polisacáridos y agua, comúnmente denominado matriz (Figura 8), ya que consiste esencialmente en agua y una red de polianiones con cargas negativas fijas, el agua está presente en forma libre móvil con cationes y aniones en solución.

Dado que las células ocupan una pequeña fracción del volumen total del cartílago, el transporte de fluido a través del cartílago depende de las propiedades de la matriz (colágeno-proteoglicano entrecruzados, como se muestra en la Figura 11) ^{12, 24}.

El colágeno del cartílago, que representa aproximadamente la mitad de la masa tisular en peso seco, se presenta en un arreglo estructural altamente específico, formando cuatro capas principales. La proporción de colágeno a proteoglicano en peso seco es aproximadamente 3:1. Sin embargo, la composición exacta depende en gran medida de la ubicación en la superficie articular, la profundidad, la edad, así como los estados de salud de los tejidos. Se ha demostrado que los cambios de contenido en los proteoglicanos en el cartílago articular son de menor importancia en comparación con los cambios en el contenido y la orientación del colágeno⁵⁷.

En promedio la matriz del cartílago articular consiste principalmente de agua (70-85) % del peso húmedo total, dependiendo de la profundidad cambia la concentración de los componentes del cartílago (Figura 12), el restante (15-30) % en peso húmedo; es decir, el peso en seco en promedio es de (60-70) % de colágeno y (5-15) % de glucosaminoglicanos, los constituyentes restantes son células, electrolitos inorgánicos y lípidos¹⁸. La cantidad de células del tejido es bastante baja en comparación con otros tejidos biológicos, que van desde sólo el (1-10) % en volumen⁵⁸.

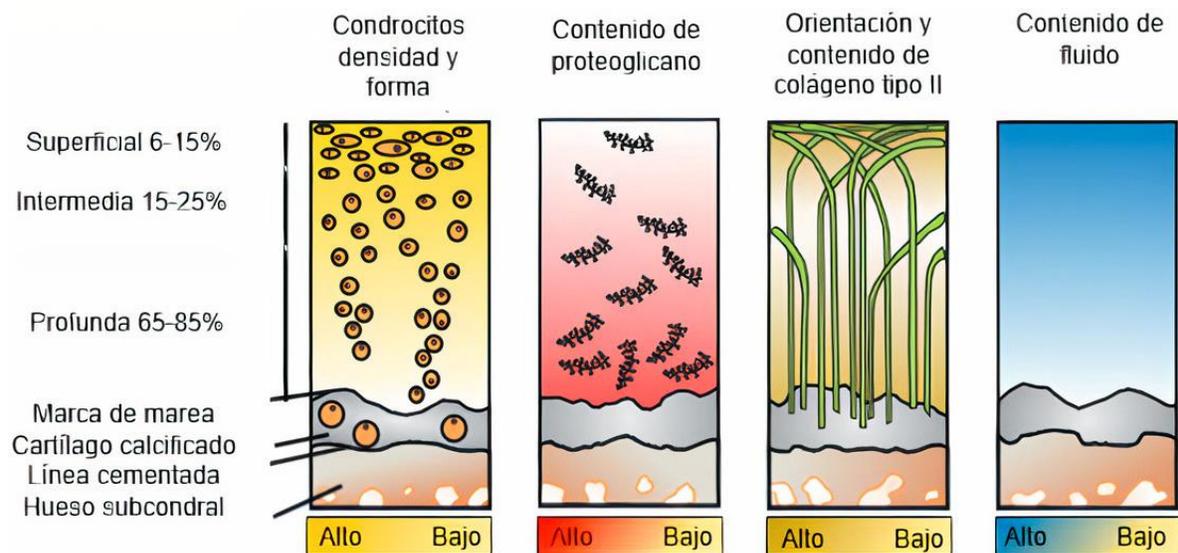


Figura 12. Contenido de la composición (condrocitos, proteoglicano, colágeno tipo II y fluido) del cartílago articular hialino en todo su espesor⁴¹.

2.4.- Mecánica de cartílago hialino articular

El CHA debe cumplir dos funciones críticas, la primera es transferir fuerzas de manera relativamente uniforme, de una placa de hueso subcondral a la otra y la segunda permitir el movimiento relativo de las superficies articulares con fricción y desgaste mínimos. En las actividades ordinarias, este tipo de cartílago articular está sujeto principalmente a cargas de compresión, por lo que son las propiedades más importantes que deben medirse⁵⁹.

La FDA destaca la importancia de conocer su comportamiento mecánico. El documento recomienda medir la máxima tensión de compresión recuperable, el módulo agregado (H_a), el módulo de corte (τ), la permeabilidad (k_0) (comportamiento estático) y el módulo de corte complejo G^* (comportamiento dinámico). Para la evaluación de estos parámetros, se sugiere consultar la norma ASTM F2451 como un requisito para la evaluación mecánica. Además, sugiere que las curvas obtenidas de compresión deben ajustarse a la teoría bifásica de Van C. Mow¹⁸ para obtener el módulo agregado y la permeabilidad, ya que la carga de compresión es un tipo de carga fisiológica importante para el cartílago^{22, 60-62}.

La integridad mecánica del cartílago y su resistencia a la lesión depende de la interacción de la matriz extracelular con el hueso subcondral subyacente. Ambas estructuras son mecánicamente complementarias, es decir, el hueso subcondral absorbe la mayor parte de la carga mecánica transmitida, debido a su rigidez⁵⁷. Sin embargo, las cargas y tensiones fisiológicas de la articulación son altas, con tensiones de contacto de 2-12 MPa entre los CHA de tibia y fémur con los meniscos que son fibrocartilago (ver Figura 9).

Se ha demostrado que las presiones de contacto son apoyadas por la presurización del líquido intersticial⁶³, protegiendo a la matriz sólida del cartílago de presiones excesivas.

La interacción entre el sólido y el líquido en la matriz extracelular, provoca el comportamiento viscoelástico del CHA permitiendo la relajación del esfuerzo, lo que permite que el cartílago resista presiones altas en comparación con otros tejidos compuestos de colágeno, lo que protege a los condrocitos y a la matriz extracelular^{61, 64}.

Cada constituyente del CHA produce un conjunto especial de mecanismos. La rigidez a la tensión de la matriz se deriva principalmente de las propiedades intrínsecas de las fibrillas de colágeno, el esfuerzo cortante de la cantidad de colágeno y fuerza del entrecruzamiento de interacciones colágeno-proteoglicano (entrecruzamiento de tipo iónico entre los grupos amino NH_3 de colágeno y sulfatos SO^- de los glucosaminoglicanos que forman parte de los proteoglicanos⁶⁵) y las propiedades de compresión surgen principalmente de las propiedades

fisicoquímicas y rigidez estructural de los proteoglicanos inmovilizados dentro de la red de colágeno⁶⁵.

El CHA es un tejido heterogéneo, sus propiedades mecánicas cambian dependiendo la profundidad del tejido, cambian por la variación de la composición en el tejido²⁹. Cuando se aplica una carga externa a la rodilla, el cartílago se deformará para aumentar las áreas de contacto y la congruencia del fémur y la tibia (ver figura 9). La distribución de la carga a través de la articulación y a través del grosor del CHA, se combina en esfuerzos cortantes, tensión y compresión.

Hay dos mecanismos disipativos distintos en respuesta a la carga, que son responsables de los comportamientos mecánicos:

1. Fuerza de arrastre dependiente del flujo de fluido intersticial, a través de la matriz sólida permeable y porosa, que está anclada al hueso subcondral.
2. Independiente del flujo, las deformaciones de las macromoléculas sólidas de colágeno y glucosaminoglicanos^{66, 67}.

La tensión ocurre cuando las dos superficies de cartílago se deslizan una sobre la otra, tirando de las regiones circundantes hacia el punto de carga. A medida que el cartílago se carga en tensión, las fibrillas de colágeno dentro de la matriz sólida se alinean y estiran a lo largo del eje de carga, las propias fibras de colágeno entrecruzadas comienzan a estirarse, lo que da como resultado que el tejido muestre una mayor rigidez a mayores deformaciones. El cartílago es anisótropo en tensión, exhibiendo mayor rigidez a la tensión en forma decreciente desde la parte superior a la inferior de su espesor. La rigidez del CHA es típicamente de 5 a 20 veces mayor bajo carga de tensión en comparación con la carga de compresión⁶⁸. En compresión exhibe mayor esfuerzo a deformarse en dirección paralela a la superficie que perpendicular a ella⁶⁹. El CHA de los surcos femorales es anisotrópico en todo el rango de deformación en esfuerzo cortante, mientras que el CHA de los cóndilos femorales laterales muestran anisotropía solo en deformaciones entre (20–25) %⁷⁰. El cartílago humano sufre tensiones de cizallamiento cercanas al 15 % en condiciones normales de carga in vivo, durante la caminata. Sin embargo, existen pocos datos sobre las pruebas de cizallamiento estático⁷¹.

La anisotropía mecánica aún no se ha caracterizado en su totalidad. La deformación de condrocitos *in situ* ha demostrado que la relación entre la deformación de la célula y la matriz extracelular es anisotrópica, en cada zona es distinta y depende de la orientación de las fibras de colágeno⁷².

2.5.- Propiedades de los materiales

Para conocer el comportamiento del CHA es importante determinar sus propiedades. El presente estudio se enfoca en estudiar la propiedades mecánicas, es decir, al deformarlo, cuanto tiempo y cuanta fuerza se necesita para lograr cambiar sus dimensiones. Las relaciones entre las tensiones y deformaciones se conocen como leyes constitutivas. La ley constitutiva más conocida es la ley de Hook $\sigma = E\varepsilon$ en un plano cartesiano de coordenadas Y (σ esfuerzo) y X (ε deformación) se relacionan a una velocidad proporcional “E”, describiendo que al aplicar una fuerza y aumentarla, la deformación incrementa de la misma manera, describiendo un fenómeno físico. El CHA puede considerarse como un material compuesto bifásico: una fase fluida y una fase sólida. Su interacción entre estos componentes da lugar a sus propiedades mecánicas únicas^{47, 73}.

Cuando se aplica una carga en la superficie del CHA, la fuerza se distribuye en el área de contacto, generando presión o esfuerzo y da como resultado la compresión del tejido. La respuesta del cartílago a una carga mecánica aplicada, se ha descrito de distintas formas, por ejemplo: elástica, viscoelástica, poroelástica, poroviscoelástica, porohiperelástica, poroviscohiperelástica, bifásica y trifásica. La mayoría de los modelos consideran CHA homogéneo e isotrópico^{54, 74}. El modelo bifásico se sigue utilizando en la literatura debido a su capacidad para describir con éxito la respuesta mecánica del CHA a diferentes condiciones de carga^{44, 75}.

La teoría bifásica de Van C. Mow, considera que la mayoría de los tejidos que contienen grandes cantidades de agua, por ejemplo, CHA (cartílago hialino), ligamento, tendón y menisco (fibrocartílago), tienen un comportamiento de esfuerzo-deformación no lineal, debido a la interacción del sólido y el fluido. Bajo carga de compresión, el fluido dentro del tejido puede ser expulsado del mismo, como el agua que se exprime de una esponja. La facilidad de flujo de agua a través de la matriz sólida porosa es una medida de su permeabilidad. Una permeabilidad baja, generalmente se asocia con poros pequeños y dificultad de expulsar el fluido. Para comprender la deformación del CHA, primero se analiza el proceso de flujo del agua a través de él, al comprimir el tejido se crea un cambio volumétrico, como resultado de la expulsión del líquido del tejido. Por lo tanto, la deformación del CHA depende del movimiento del líquido^{21, 65}.

El modelo bifásico ha sido capaz de describir la respuesta del CHA en ensayos mecánicos de compresión, en fluencia y esfuerzo de relajación. Para medir las propiedades mecánicas del CHA en cargas de compresión, se usan los métodos de indentación, compresión no confinada y compresión confinada³⁷.

2.5.1.- Compresión

La carga de compresión es uno de los principales tipos de esfuerzo mecánico que experimentan las articulaciones sinoviales. El módulo de compresión agregado (H_a) es una medida de la rigidez del CHA en equilibrio, cuando cede el flujo de agua, esta magnitud oscila entre 0.08 y 2.5 MPa y varía con la profundidad del tejido, ubicación en la articulación y especie.

Debido a que el agua es incompresible, la compresión del CHA solo puede ocurrir con la salida de agua del tejido. La matriz sólida del CHA, porosa-permeable permite el flujo de líquido intersticial, desde el hueso subcondral (impermeable) hasta su superficie, la matriz tiene baja permeabilidad, por lo tanto, resiste al flujo del agua. La fricción entre las paredes de los poros y el líquido intersticial genera grandes fuerzas de cizallamiento que dificultan la salida de agua a través del tejido. La tasa de salida, está controlada por la porosidad de la red sólida y la viscosidad del líquido.

La compresión y la recuperación de las dimensiones del CHA ocurren repetidamente a nivel de microescala durante el movimiento articular normal. Sin embargo, en el transcurso de un día, el tejido se comprime ligeramente en comparación con su estado inicial, resultando deformaciones por compresión totales entre (15-20) % de su espesor. En un buen período de la inactividad, como una noche de descanso permite que el tejido se recupere por completo¹⁰.

En estudios previos, se analizó en una actividad física la carga del tejido CHA de rodilla y mediante imágenes de resonancia magnética antes y después de la actividad. Se comparó para medir la deformación resultante, esta técnica es posible debido a su fluencia viscoelástica⁷⁶. Durante la carga, el CHA exhibe un comportamiento dependiente del tiempo y la carga, que se debe principalmente a que el agua sale del tejido y al movimiento de la red entrecruzada (colágeno tipo II-proteoglicanos), es decir, la interacción del sólido y el líquido en compresión (ver Figura 13), relajación de esfuerzo y recuperación de su forma original. Esto se usa para medir la deformación inducida por la carga, el cambio en el espesor principalmente, puesto que la caracterización mecánica del material de CHA requiere el conocimiento de la historia del tiempo de deformación¹⁸.

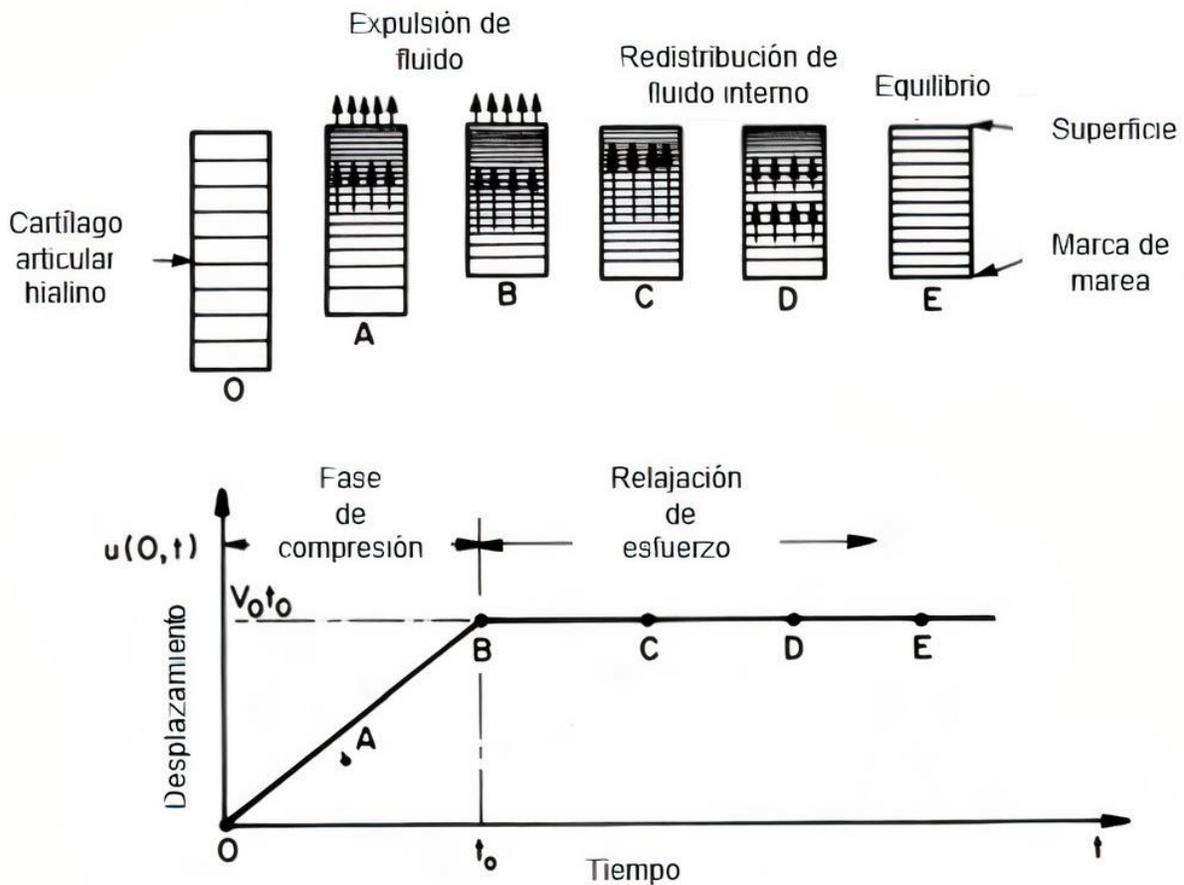


Figura 13. Comportamiento dependiente del tiempo y la carga, se muestra una compresión inducida (O-A-B) y mantenimiento de la deformación (B-C-D-E), el movimiento de la red entrecruzada (colágeno tipo II-proteoglicanos), es decir, la interacción del sólido y el líquido en compresión, dan resistencia a compresión al cambiar de volumen de O a B y relajan el esfuerzo cuando se mantiene la deformación de B hasta E redistribuyendo su organización y el fluido interno¹⁸.

La respuesta mecánica del CHA se puede cuantificar *in vivo* al evaluar la deformación, al retirar la carga comienza un período de recuperación, el agua fluye de regreso al tejido, provocando la reversión de la deformación con el tiempo a medida que la carga se retira, volviendo a su estado inicial. La trayectoria de carga y descarga es una medida de fluencia, es decir el historial de deformación del material⁷⁷.

La deformación máxima *in vivo* se ha reportado entre (7-23) % en un día de actividades moderadas y 30 % con actividad excesiva. Las pruebas mecánicas a pequeñas deformaciones de (3-5) % no imitan el entorno mecánico completo *in vivo*, por lo tanto, no proporciona total conocimiento de las respuestas mecánicas del CHA.

Grandes deformaciones compresivas también causan grandes tensiones de cizallamiento dentro del CHA, particularmente cerca del hueso subcondral. La deformación de esfuerzo cortante generalmente excede la deformación por carga de compresión in vivo, es decir, mayores a 20 %, debido a que actúa directo en la matriz sólida⁷⁸.

Se ha determinado que las propiedades mecánicas intrínsecas de esta matriz porosa, en tensión, cizallamiento y compresión confinada en equilibrio, parecen ser linealmente elásticas hasta 20 % de deformación⁷⁹.

En la compresión del CHA, al ceder el flujo líquido producido por la baja permeabilidad, se disminuye la distancia entre los proteoglicanos, estos tienen cargas negativas que se repelen entre ellas, aumentando la resistencia ante las cargas de compresión. Durante la carga fisiológica, las tasas en la zona superficial experimentan el nivel más bajo de presión hidrostática, mientras que la tensión más alta se puede detectar hasta en 50 % de profundidad del tejido, con el mayor caudal de fluido y la mayor resistencia al cizallamiento. Por el contrario, al aumentar la profundidad del CHA la tensión es muy baja y no existe flujo de fluido, pero la presión hidrostática alcanza sus valores más altos. La impermeabilidad del hueso subcondral adyacente, confina al CHA en un marco de superficie de contacto que limita la deformación mecánica²⁰.

2.5.2.- Compresión confinada

Lograr un comportamiento lineal en las respuestas de esfuerzo-deformación, es necesario para clasificar los mecanismos físicos que dan lugar a la resistencia y a la deformación del tejido. En estudios previos, usando la geometría de compresión confinada, se ha caracterizado parcialmente la linealidad utilizando una variedad de enfoques: la respuesta de equilibrio, fluencia transitoria y esfuerzo de relajación (ver Figura 13).

Cuando se utiliza el comportamiento lineal tomando en cuenta la teoría bifásica de Van C. Mow, la prueba de compresión confinada se puede utilizar para estimar la permeabilidad y el módulo agregado⁸⁰. Las soluciones analíticas para el problema de compresión confinada están disponibles para el modelo no lineal de Van C. Mow⁴³. Este protocolo experimental fue impuesto por Mow y colaboradores en 1980, es un método para evaluar las propiedades materiales intrínsecas de la matriz sólida, anteriormente mencionados⁴⁷. Las configuraciones de prueba utilizadas con más frecuencia para las propiedades mecánicas de compresión del cartílago articular son las pruebas de compresión confinada, compresión no confinada e indentación.

Durante la prueba de fluencia por compresión confinada, el comportamiento mecánico del CHA está descrito con precisión con el modelo bifásico. El módulo agregado y la permeabilidad, son altamente dependientes del contenido de agua del tejido, ésta dependencia puede atribuirse al menos parcialmente al hecho de que la resistencia a la deformación y al flujo de fluidos a través del tejido depende de la cantidad de matriz sólida (proteoglicanos y colágeno) por unidad de volumen de la muestra^{66, 67, 81}.

Estudios reportados en la literatura, indican que el ensayo de fluencia en compresión de CHA sano, *ex vivo*, comparado con la evaluación de la recuperación de fluencia monitoreada en resonancia magnética de CHA sano, *in vivo*, determinan que no existen diferencias estadísticamente significativas, tanto en módulo agregado como en el tiempo característico entre las fases de fluencia de compresión y su recuperación. Este hallazgo promueve el uso de estudios de fluencia, especialmente para la medición de propiedades mecánicas enfocadas a diseños de ingeniería de órganos y tejidos⁷⁶.

2.5.3.- Permeabilidad

La permeabilidad del tejido es una medida de la facilidad con la que el fluido puede fluir a través del CHA. Esta permeabilidad depende de la deformación por compresión. Hay una disminución no lineal en la permeabilidad con aumento de deformación por compresión, lo que conduce a una reducción significativa en la capacidad de flujo de líquido a través del CHA⁵².

La dificultad de determinar la permeabilidad de los tejidos blandos con procedimientos tradicionales, es debido a que el fluido no fluye a través de la muestra de manera uniforme. Al comprimir en una cámara confinada, obligamos a que el fluido fluya de manera, este efecto es particularmente importante para tejidos blandos como el cartílago, donde es fácil compactar el CHA. Un valor pequeño de permeabilidad indica que la resistencia a la fricción es muy alta al flujo del agua, la permeabilidad disminuye con la profundidad, por ejemplo, en el CHA tiene un valor de $0.76 * 10^{-3} \frac{mm^4}{N*s}$ perteneciente a la región media y un valor de $0.43 * 10^{-3} \frac{mm^4}{N*s}$ que es del cartílago más profundo⁵².

La permeabilidad (k) junto con el módulo agregado (Ha), pueden ser determinados ajustando la curva de fluencia o las asíntotas de la curva de esfuerzo de relajación²¹. Se ha reportado que estos parámetros constituyen la caracterización más pertinente de la permeabilidad del tejido⁴⁴.

El transporte de fluidos rige el funcionamiento reológico de muchos tejidos blandos. Esto incluye cartílago hialino, endotelio corneal, tejido vascular, bicapas lipídicas, membranas de glóbulos rojos, mucosa, fibrocartilago, tejido arterial, piel porcina, entre otras. Los tejidos donde la permeabilidad es determinante en su funcionamiento, contienen gran cantidad de líquido intersticial⁸².

El papel de la función de la permeabilidad no lineal, es controlar la tasa de flujo de líquido intersticial. Éste rige el comportamiento mecánico del tejido al deformarse, un papel fundamental en los procesos biológicos, al transportar nutrientes hacia el interior del tejido y expulsar desecho hacia el exterior del mismo, y lubricar las superficies de las articulaciones, a través de la exudación y la imbibición de fluido causada por la deformación del tejido⁴⁷.

3.- Metodología

3.1.- Obtención y preparación de probetas de cartílago hialino articular

Se obtuvieron 10 rodillas porcinas y 10 cóndilos bovinos sanos, los materiales fueron almacenados a -4°C en su recepción⁸³.

El CHA se acondicionó con el siguiente procedimiento: Las rodillas fueron descongeladas en baldes de agua a temperatura ambiente, separándola de la tibia y de la rótula del fémur, cortando algunos ligamentos de los meniscos y limpiando la grasa de las superficies articulares.

Se escalparon las superficies femorales de cada especie cuidadosamente para desprender el cartílago articular del hueso, obteniendo el CHA desde la interface del hueso hasta la superficie (ver Figura 14)^{85, 86}. Posteriormente se almacenó a -4°C hasta el corte de probetas, de acuerdo con el procedimiento de compresión confinada para pruebas de fluencia y esfuerzo de relajación^{18, 86, 87}.

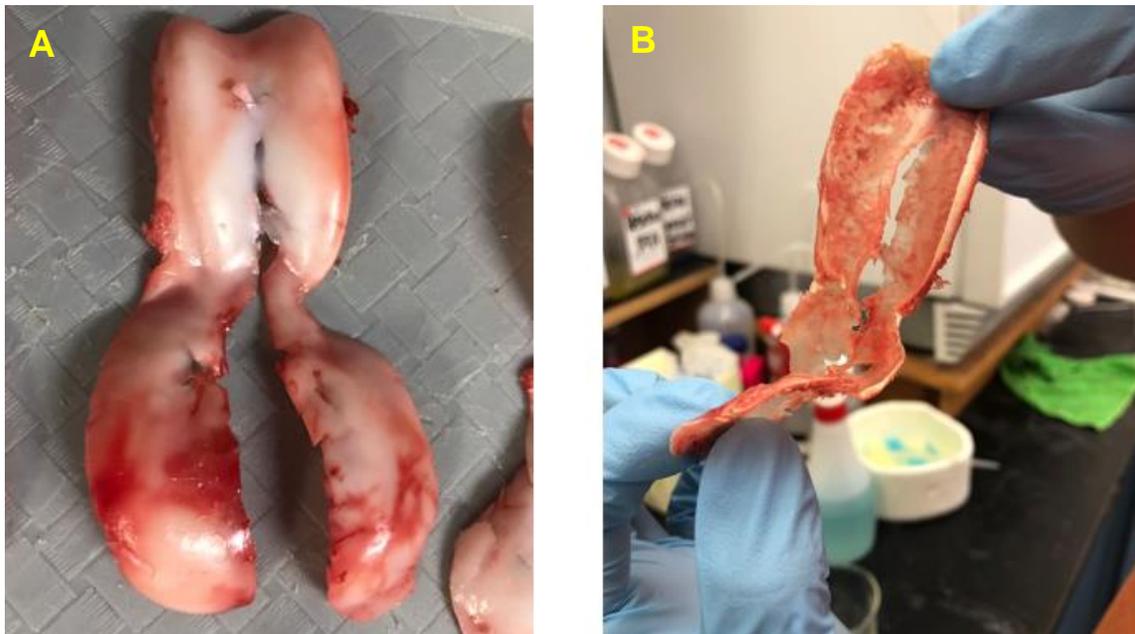


Figura 14. Cartílago escalpado del cóndilo completo porcino antes (A) y después de congelar (B).

3.2.- Corte de probetas

Se cortaron discos de CHA de 20 mm de diámetro por cada zona del cóndilo femoral (3 discos), es decir, surco, medial y lateral⁸⁷. 3 discos por cada cóndilo bovino y porcino con la ayuda de un suaje.

El CHA muestra variaciones topográficas en la morfología y la congruencia de las superficies dentro de la articulación, éstas diferencias son resultado de las distintas cargas que experimenta el CHA dependiendo del sitio, se ha observado que las superficies articulares opuestas tienen distintas propiedades de módulo agregado y permeabilidad del material¹⁶. Las probetas circulares de cartílago articular fueron lavadas e hidratadas con Buffer de fosfatos salino (PBS) pH 7.4 y etiquetados dependiendo el número de cóndilo y zona (ver Figura 15).

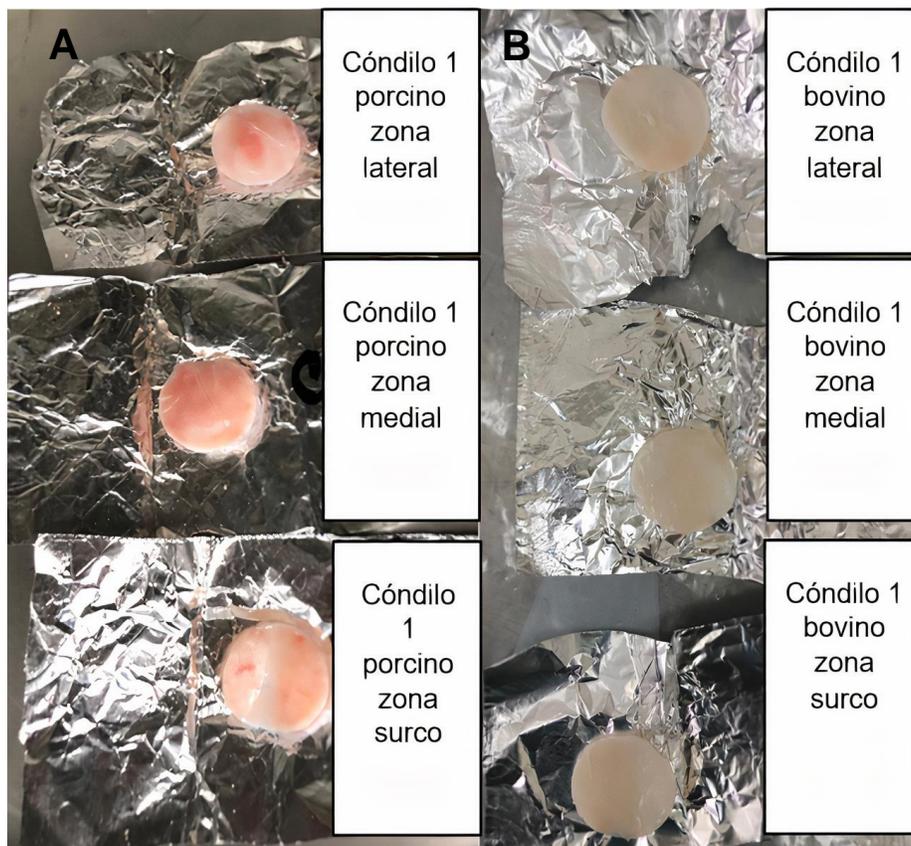


Figura 15. Probetas de cartílago porcino (A) y bovino (B), se muestran las 3 zonas a estudiar: cóndilo lateral sitio de carga moderada, cóndilo medial sitio de alta carga y surco sitio de carga baja.

Un total de 15 discos de CHA de 5 cóndilos femorales porcinos y 15 discos de CHA de 5 cóndilos femorales bovinos fueron cortados para realizar pruebas mecánicas de esfuerzo de relajación y fluencia de acuerdo a la norma ASTM F2451-05⁸⁶.



Figura 16. Máquina de ensayo universal Shimadzu AGS-X 10 kN y sus juntas para ensayos de compresión y de tensión.

Se diseñó una cámara confinada para probetas de 20 mm de diámetro, acorde con las probetas cortadas de CHA. La cámara confinada cuenta con un pistón y base a medida de la probeta, para confinar la probeta de CHA, permitiendo la exudación del líquido intersticial. De manera que la junta para ensayos de compresión se adapta al mecanismo de compresión de la cámara confinada (ver Figura 16 y 17).

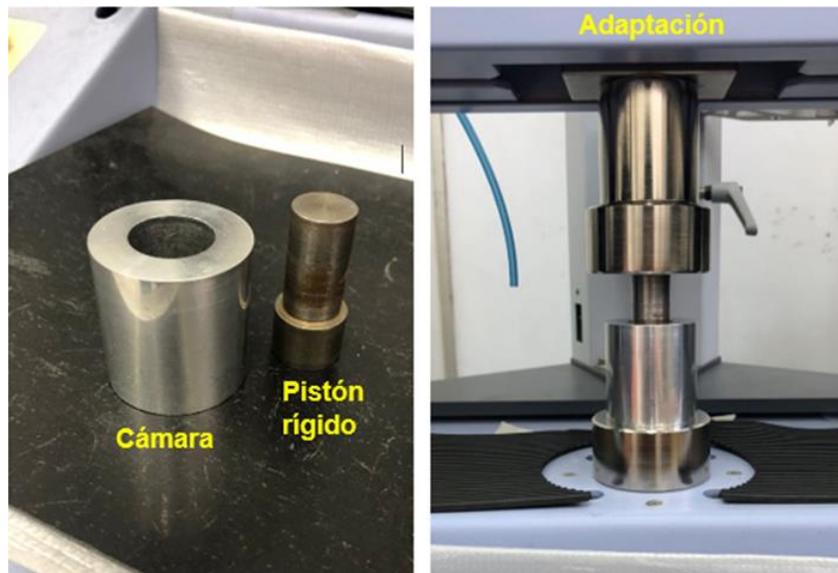


Figura 17. Componentes de cámara confinada (cámara como base y pistón rígido a medida del diámetro de las probetas para su confinamiento) y su adaptación a la máquina de ensayo universal Shimadzu AGS-10-kN.

3.3.- Esfuerzo de relajación

Se realizaron las mediciones del espesor del CHA para compresión por esfuerzo de relajación con un vernier (calibrado), resumidos en la Tabla 4 y 5, la prueba mecánica se realizó en base a la norma ASTM F2451-05 (anexo 7.1 página 6).

Tabla 4. Espesor de probetas CHA de 5 cóndilos bovinos y 5 porcinos. .

Zona	Espesor de probetas de CHA de cada especie (mm)									
	Cóndilos Bovinos					Cóndilos Porcinos				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Cóndilo medial	1.96± 0.12	1.75± 0.08	1.73± 0.05	1.78± 0.04	1.68± 0.11	2.10± 0.13	1.82± 0.12	2.60± 0.12	2.38± 0.15	3.15± 0.21
Cóndilo lateral	1.45± 0.06	1.70± 0.04	1.93± 0.06	1.63± 0.05	2.00± 0.08	2.43± 0.15	1.73± 0.09	2.20± 0.12	3.11± 0.18	2.95± 0.10
Surco	1.59± 0.05	1.20± 0.08	3.67± 0.10	1.65± 0.08	2.14± 0.10	2.31± 0.22	1.85± 0.08	3.63± 0.32	4.70± 0.35	4.38± 0.38

Para esta prueba se colocó 1 probeta de cada zona de CHA dentro de la cámara, 3 pruebas de esfuerzo de relajación se realizaron por cada cóndilo femoral. En el procedimiento de medición previamente se calibró la máquina de ensayo universal Shimadzu AGS-X 10kN, se aseguró el contacto uniforme entre el pistón y la superficie del cartílago articular, la lectura de tara para asegurar el contacto fue entre 0.5 a 1 N, seguido de dos deformaciones escalonadas de 10 % y después hasta el 20 %, a una velocidad de 0.5 mm/s¹⁰.

Al 10 % se permitió relajar el esfuerzo durante 15 minutos, de la misma manera cumplido el tiempo de relajación, se deformó de nueva cuenta hasta un 20 %, permitiendo relajar 15 minutos el esfuerzo⁶².

Se obtuvieron 3 discos de CHA adicionales de un sexto cóndilo porcino y bovino, para hacer pruebas de esfuerzo de relajación a deformaciones superiores al 20 % (ver Tabla 5).

Tabla 5. Espesores de probetas de CHA del sexto cóndilo bovino y porcino.

Zona	Espesor de probetas de CHA de cada especie (mm)	
	Cóndilo Bovino	Cóndilo Porcino
	6	6
Cóndilo medial	2.32±0.10	2.58±0.13
Cóndilo lateral	1.52±0.04	2.10±0.09
Surco	1.94±0.08	2.46±0.15

Se hicieron 5 pruebas de esfuerzo de relajación por cóndilo de cada especie, en total 10 pruebas, 2 mediciones para cóndilo medial, 2 para el cóndilo lateral y 1 para el surco a distintos porcentajes de deformación, en el procedimiento de medición previamente se calibró la máquina de ensayo universal Shimadzu AGS-X 10kN, inicio asegurando el contacto uniforme entre el pistón y la superficie del CHA, la lectura de la tara para asegurar el contacto se consideró entre 0.5 a 1 N, seguido de dos deformaciones escalonadas a una velocidad de 0.5 mm/s.

Para la primer medición de cada especie se deformó hasta el 20 % manteniéndose así 15 minutos la deformación, cumplidos los 15 minutos se deformó hasta 30 % y se mantuvo 15 minutos la deformación para relajar esfuerzos. Así con la segunda medición de (25-40) % de deformación, la tercera (25-40) %, la cuarta (30-45) % y la quinta (30-45) % de deformación con el mismo tiempo de relajación respectivo.

3.4.- Fluencia

Se realizaron las mediciones del espesor del CHA con un vernier (calibrado), resumidos en la Tabla 6, la prueba mecánica se realizó en base a la norma ASTM F2451-05 (anexo 7.1 página 6).

Tabla 6. Espesor de probetas de CHA de las zonas de carga consideradas para fluencia.

Espesor de probetas de CHA de cada especie (mm)									
Cóndilos Bovinos					Cóndilos Porcinos				
1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Cóndilo lateral	Cóndilo lateral	Cóndilo lateral	Cóndilo medial	Cóndilo lateral	Cóndilo lateral	Cóndilo medial	Cóndilo lateral	Cóndilo lateral	Cóndilo lateral
1.45± 0.06	1.70± 0.04	1.93± 0.06	1.78± 0.04	2.00± 0.08	2.43± 0.15	1.82± 0.12	2.20± 0.12	3.11± 0.18	2.95± 0.10

Para esta medición se hizo el ensayo con una probeta de cada muestra de CHA de zona de carga intermedia o alta, en el procedimiento de medición previamente se calibró la máquina de ensayo universal Shimadzu AGS-X 10kN, inició asegurando el contacto uniforme entre el pistón y la superficie del cartílago articular, la lectura de tara para asegurar el contacto fue entre 0.5 a 1 N, seguido de una deformación repentina a una velocidad de 1 mm/min hasta alcanzar 1 MPa de esfuerzo y mantener el esfuerzo durante 1 hora, para medir la fluencia del CHA para probetas de especie porcina y 1 hora con 15 minutos en probetas de CHA bovino, al cumplir el tiempo de fluencia se dejó relajar 1 hora el esfuerzo manteniendo la deformación para CHA porcino y 45 minutos para CHA bovino^{60, 62}.

3.5.- Cálculo de parámetros intrínsecos de cartílago articular

Para calcular el valor del módulo agregado (H_a) (ver Ecuación 1), en las curvas de esfuerzo de relajación (ver Figura 18 y anexo 7.1 página 6), se interpola éste esfuerzo de relajación, es decir, cuando el esfuerzo es constante (σ_∞), a una deformación (ϵ_0), la cual se mantiene para medir la relajación del esfuerzo.

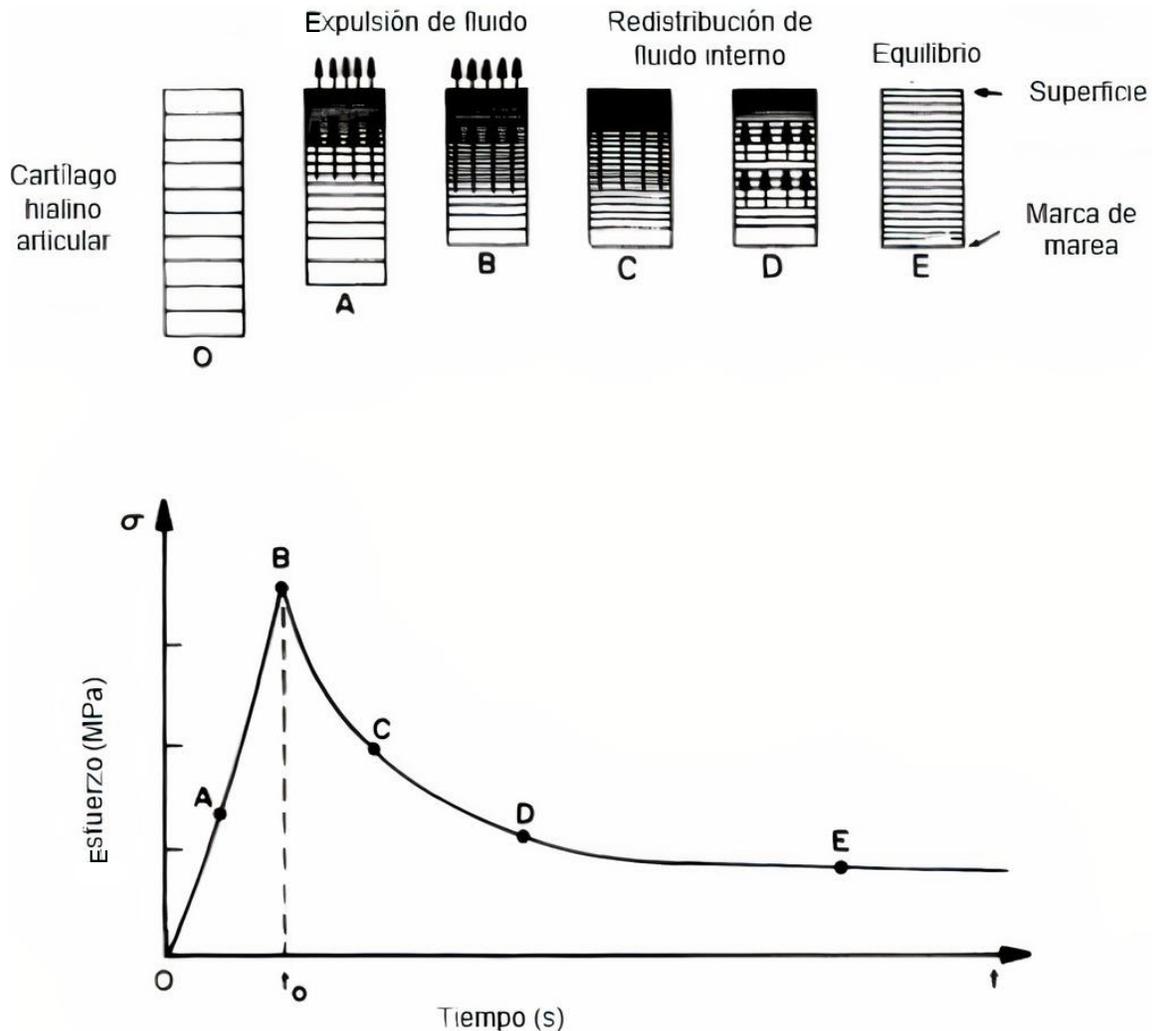


Figura 18. Diagrama de compresión de cartílago articular hialino, que muestra resistencia a la compresión de O-A-B, deteniendo la compresión en B hasta una deformación determinada ϵ_0 , seguido de la fase de relajación del esfuerzo B-C-D-E permitiendo medir el esfuerzo cuando es constante en E y por consecuencia su módulo agregado con la fórmula 1 (rigidez en compresión)¹⁸.

$$H_a = \frac{\sigma_\infty}{\epsilon_0} \quad (1)^{88}$$

Dado el valor de H_a con la ecuación 1, se calcula la permeabilidad (k_o) ajustando las curvas de compresión (Figura 18) $t < t_o < \infty$ o de esfuerzo de relajación cuando $t_o < t$. Para curvas de baja velocidad de compresión el comportamiento está dado por la ecuación 2:

$$\sigma_{zz} = H_a * \epsilon_o \left(\frac{t}{t_o} + \frac{1}{3} * \frac{h^2}{H_a * k_o * t_o} * e^{-M * \epsilon_o * \frac{t}{t_o}} \right) \quad t < t_o \quad (2)^{88}$$

El cálculo de la permeabilidad depende de la velocidad de deformación y del flujo de líquido mediante la matriz extracelular, el flujo de líquido se describe mediante el ensayo de fluencia, el cual está descrito por la ecuación 3 que ajusta la curva de fluencia (ver Figura 19) justo después de alcanzar el esfuerzo a evaluar, graficando Desplazamiento (u) vs tiempo (t).

$$u = 2 * F_o \left(1 - \frac{M * F_o}{\pi * H_a} \right) \sqrt{\frac{k * t}{\pi * H_a}} \quad (3)^{88}$$

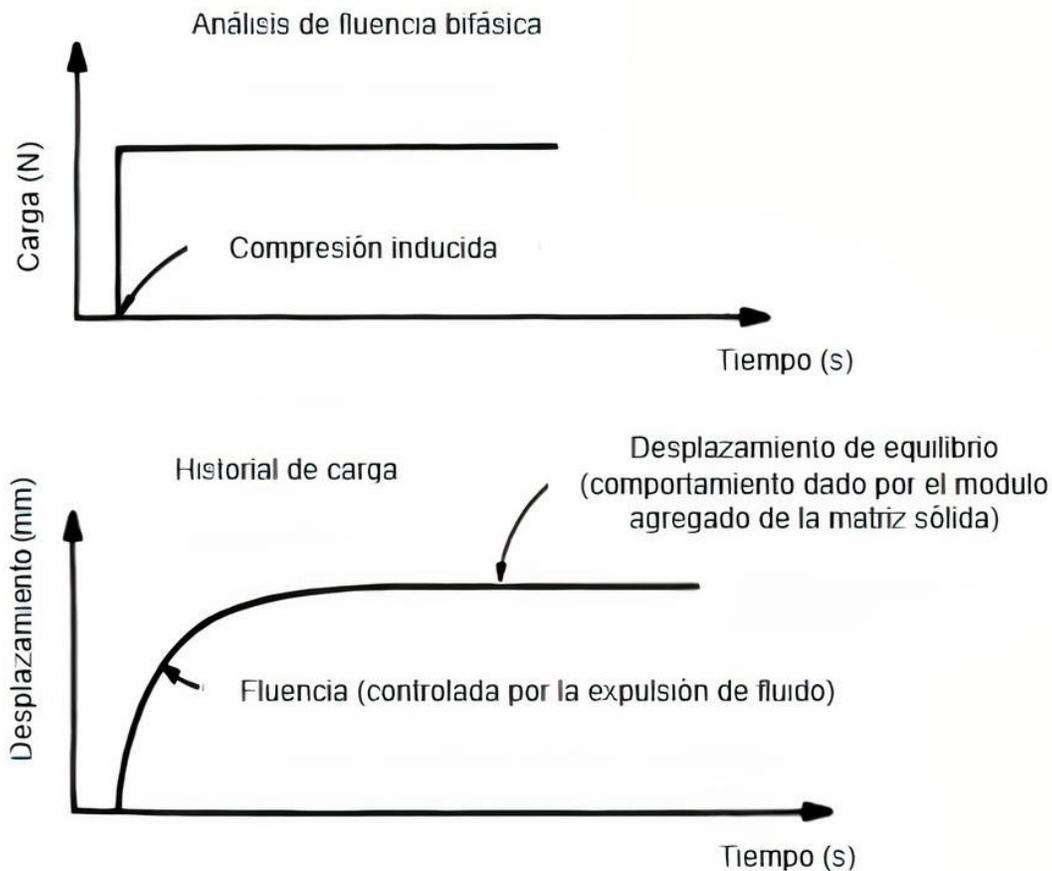


Figura 19. Curva de fluencia medida en la deformación que resulta de la expulsión de fluido y su resistencia a un esfuerzo inducido, después de una carga determinada se mide el comportamiento de la matriz sólida ante éste estímulo (H_a) y su velocidad de expulsión de fluido (k_o)⁶⁶.

Para calcular la permeabilidad dependiente de la deformación (K) se utiliza la ecuación y el parámetro de linealidad de permeabilidad (M):

$$K = k_0 * e^{(M\varepsilon)} \quad (4)^{88}$$

La cual describe cómo cambia la permeabilidad al comprimir el tejido (Figura 20).

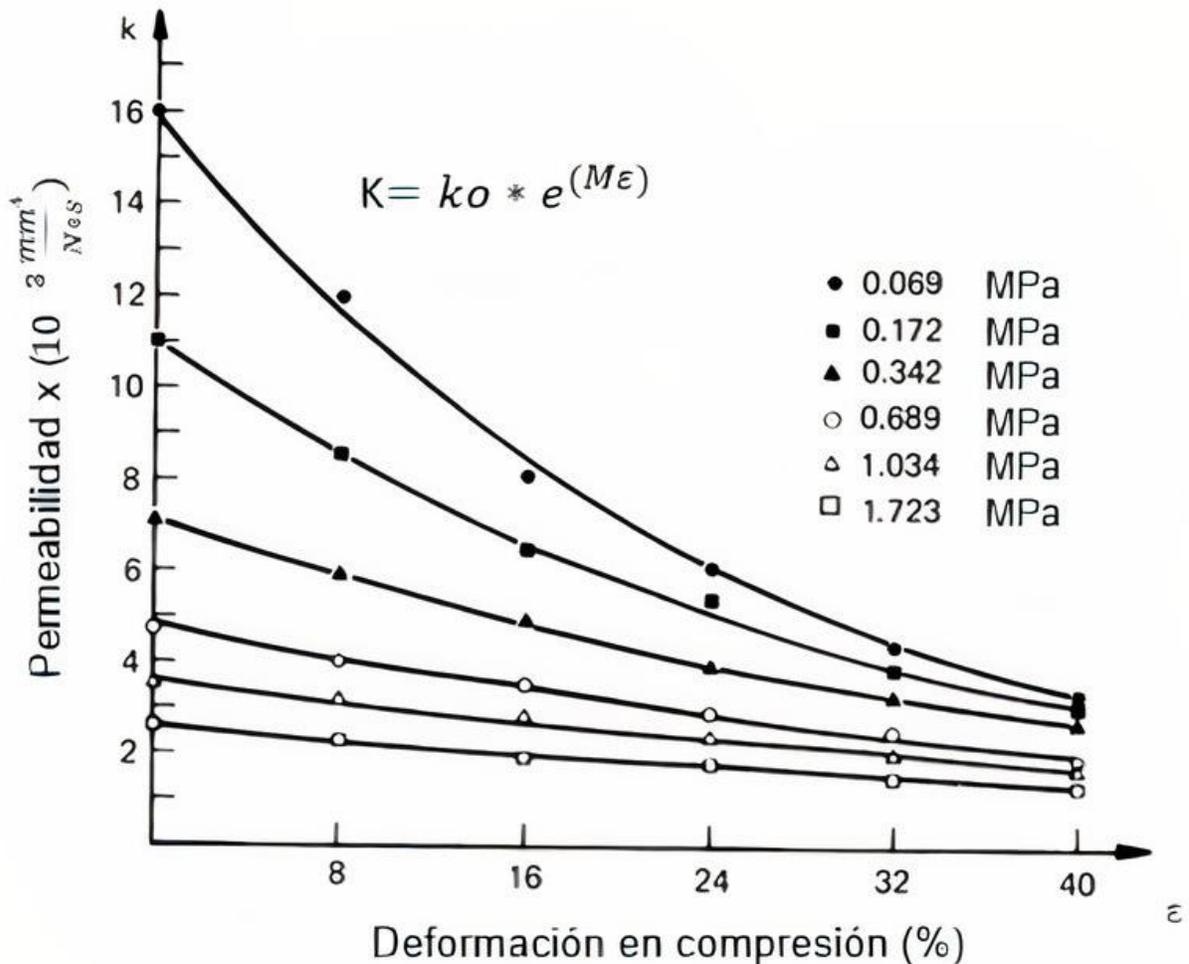


Figura 20. Comportamiento de la permeabilidad (K) mediante una deformación (ε), a una velocidad (k₀) la cual puede estar inducida por una variedad de esfuerzos distintos que definen un comportamiento lineal o no lineal⁸⁸.

Se hacen las siguientes suposiciones para esta prueba: las fracciones de volumen son uniformes; la permeabilidad (k₀) y el módulo agregado (H_a) son constantes; tanto la fase sólida como la fluida son incompresibles; se supone un comportamiento de fase sólida: elástico-lineal, se supone que la deformación unidimensional y la teoría de la deformación infinitesimal son válidas⁸⁶ (anexo 7.1 página 6).

3.6.- Análisis estadístico

Se deben calcular la media y la desviación estándar para cada medida de las muestras. La prueba de Kruskal-Wallis (un análisis de varianza no paramétrico unidireccional, también llamada prueba sin distribución, los datos utilizados no tienen que tener una distribución normal y deben ser de escala ordinal) se puede utilizar para analizar la estadística de 3 diferentes grupos⁸⁶ (ver anexo 7.1 página 7) y la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney para analizar solamente las diferencias entre 2 grupos distintos⁸⁶.

Esencialmente, Kruskal Wallis determina si los grupos tienen la misma mediana, generalmente se usa con tres o más grupos independientes, la U de Mann-Whitney generalmente se usa con 2 grupos, cada grupo debe tener un tamaño de muestra de 5 o más. Las pruebas indican si existe diferencia en la tendencia de varias muestras independientes, dando como resultado 2 posibilidades de análisis, una hipótesis nula (verdadera) y alternativa (se rechaza).

La hipótesis nula señala que las muestras independientes tienen todas la misma tendencia y por lo tanto no existen diferencias significativas estadísticamente y la hipótesis alternativa indica que al menos una de las muestras independientes no tiene la misma tendencia que las otras muestras y, por lo tanto, existen diferencias significativas.

Se usó la prueba de Kruskal-Wallis para analizar si distintas zonas del cóndilo bovino y porcino (medial, lateral y surco) tienen diferencias significativas en los parámetros caracterizados (H_a , k_o). La prueba de Kruskal-Wallis nos ayuda a revelar si con los datos disponibles se rechaza la hipótesis nula o se confirma. La prueba no paramétrica U de Mann-Whitney se usó para analizar parámetros entre especies, es decir para ver diferencias entre los valores de H_a y k_o de CHA bovino y porcino.

3.7.- Esfuerzo cortante

Se midió el esfuerzo cortante estático de acuerdo a la norma ASTM D732-02 (ver anexo 7.2 página 2 y 3). Este método de ensayo es de corte tipo punzón y está diseñado para determinar la resistencia al esfuerzo cortante de probetas de polímero en forma de láminas y discos de espesores entre 1.27 y 12.7 mm⁸⁹.

La configuración es de una base de acero y una herramienta de corte del tipo punzón, que está construida de manera que la probeta se sujeta rígidamente tanto al bloque estacionario como al bloque móvil, de modo que no pueda pandearse la muestra durante el ensayo. Se diseñó una herramienta de corte del tipo punzón, reduciendo la escala para adaptar las probetas de cartílago hialino articular. La configuración consta de un bloque estacionario, que se ajusta con 4 tornillos para fijar probetas en forma de disco en el bloque estacionario que tiene un orificio céntrico de 17 mm de diámetro para el deslizamiento del punzón (ver Figura 21).



Figura 21. Montaje de probetas circulares de CHA para ensayo de esfuerzo cortante (A). La probeta se fija en el punzón móvil, que desliza por el orificio céntrico, con una rondana y una tuerca para fijar la muestra (B). Posteriormente ensamblada la probeta con los aditamentos, entra la parte superior de la base (C), se ajustan los tornillos (D-E), se empuja el punzón hacia abajo, hasta el corte de la probeta a una velocidad de 1.25 mm/min (F).

Se realizaron pruebas mecánicas de compresión al corte con la máquina de ensayo universal de precisión Shimadzu AGS-X 10kN, en el procedimiento de medición previamente se calibró ésta máquina, cuenta con una junta común para ensayos de tracción y compresión (ver Figura 13). Se usó la junta de compresión para empujar el punzón adaptado para dicha herramienta. Se midieron 3 probetas de distintas zonas por cóndilo femoral, 3 cóndilos de cada especie, todos los discos dentro del rango del espesor fueron ensayados, en total fueron 18 mediciones resumidas en la Tabla 7.

Tabla 7. Espesor de CHA de 3 cóndilos bovino y porcino en sus distintas zonas de carga (medial, lateral y surco).

Zona	Espesor de probetas de CHA de cada especie (mm)					
	Cóndilos Bovinos			Cóndilos Porcinos		
	1	2	3	1	2	3
Cóndilo medial	1.55±0.11	1.28±0.04	1.27±0.06	1.97±0.08	2.11±0.11	2.41±0.12
Cóndilo lateral	1.60±0.08	1.27±0.06	1.41±0.08	2.73±0.10	1.90±0.09	2.05±0.21
Surco	2.05±0.15	1.81±0.08	2.51±0.11	3.40±0.12	1.55±0.18	2.70±0.19

3.8.- Cálculo de esfuerzo cortante

El cálculo de la resistencia al corte en MPa, se determina dividiendo la carga requerida para cortar el espécimen por el área del borde cortado (ver Figura 22), que se tomará como el producto del espesor del espécimen por el diámetro del punzón⁸⁹ de acuerdo con la Ecuación 5 (ver anexo 7.2 página 3).

$$\tau = \frac{F}{(h)*(\phi\text{Punzón})} \quad (5)^{89}$$



Figura 22. Probetas de CHA de cóndilo bovino para ensayo de esfuerzo cortante (A), probeta cortada en ensayo de esfuerzo cortante fija en el punzón fuera de la cámara (B), la probeta no sufrió cambios en su espesor (no hubo flujo de fluido intersticial) (C).

4.- Resultados y discusión

4.1.- Compresión confinada: Esfuerzo de relajación

Se obtuvo el módulo agregado y la permeabilidad del CHA, de las 3 zonas del cóndilo (medial, lateral y surco) porcino y bovino, realizando ajustes de curvas mediante el Software Origin 2022b, en la curva de compresión de los ensayos de relajación de esfuerzos, con las Ecuaciones 2 y 4, se muestran los parámetros en las Tablas 8 y 9. Se realizó un análisis estadístico de Kruskal-Wallis para analizar las diferencias entre los promedios de diferentes zonas del cóndilo porcino y bovino, con un nivel de confianza de 95% ($p < 0.05$).

La permeabilidad (k_0) y el módulo agregado (H_a) en el cóndilo porcino mostraron que no existe una diferencia significativa en las variables, es decir, la hipótesis nula se confirma, entre las diferentes zonas (medial, lateral y surco) (k_0 ($H=3.17$, $p=0.205$), H_a ($H=4.34$, $p=0.114$)), dado que el valor resultó $p > 0.05$ y $H < 5.78$ no indicaron diferencias significativas. El CHA bovino y sus distintas zonas no mostraron diferencias significativas para permeabilidad y módulo agregado (k_0 ($H=0.08$, $p = 0.961$), H_a ($H=1.22$, $p = .543$)).

El test de U de Mann-Whitney derivó que las mediciones de permeabilidad y módulo agregado en la zona medial (alta carga) no difirieron de especie porcina a bovina (ver Tabla 8 y 9), (k_0 $p=0.15$ (20 % de probabilidad que un valor porcino al azar sea mayor que un valor de bovino), H_a $p=0.91$ (50 % de probabilidad que un valor porcino al azar sea mayor que un valor bovino al azar)), en la zona lateral (carga moderada) no es significativo con su diferencia (k_0 $p=0.30$ (28 % probabilidad que un valor porcino al azar sea mayor a un valor bovino al azar), H_a $p=0.54$ (64 % de probabilidad que un valor porcino al azar sea mayor que un bovino al azar)) y el surco no difirió entre especies, (k_0 ($p=0.055$ 12 % de probabilidad que un valor de porcino al azar sea mayor que un valor bovino al azar), H_a ($p=1$ 48 % de probabilidad que un valor de porcino al azar sea mayor que un valor de bovino al azar)).

Tabla 8. Resultados del cálculo de parámetros del CHA porcino de 5 cóndilos, obtenidos mediante ensayo de esfuerzo de relajación, en donde se enlistan los siguientes valores: del coeficiente difusivo de permeabilidad (k_0), el modulo agregado (H_a), el coeficiente de linealidad de la permeabilidad (M) (adimensional), el tiempo que tarda en comprimir del (10-20) % (t_0), su espesor (h) y el promedio de las 5 medidas con su desviación estándar.

Cóndilo Porcino		k_0 ($10^{-3} \frac{mm^4}{N*s}$)	H_a (MPa)	M	t_0 (s)	h (mm)
1	Medial	7.45	0.44	10.94	31.01	2.10
	Lateral	2.85	0.44	10.46	31.53	2.43
	Surco	7.45	0.41	8.39	31.01	2.31
2	Medial	8.95	0.45	11.13	27.59	1.82
	Lateral	6.52	0.02	9.24	21.56	1.73
	Surco	2.68	0.07	7.97	33.60	1.85
3	Medial	2.21	0.45	12.40	34.27	2.60
	Lateral	9.78	0.51	9.34	31.29	2.20
	Surco	1.99	0.38	8.10	49.19	3.63
4	Medial	6.44	0.25	8.20	24.64	2.38
	Lateral	4.70	0.83	9.86	38.51	3.11
	Surco	0.84	0.32	8.06	55.88	4.70
5	Medial	2.45	1.19	8.34	37.23	3.15
	Lateral	2.38	0.46	11.91	35.48	2.95
	Surco	0.59	0.18	8.35	52.58	4.38
Promedio	Medial	5.50±2.70	0.55±0.32	10.20±1.65	30.94±4.50	2.41±0.45
	Lateral	5.24±2.69	0.45±0.25	10.16±0.97	31.67±5.72	2.48±0.50
	Surco	2.71±2.48	0.27±0.27	8.17±0.16	44.45±10.17	3.37±1.12

Tabla 9. Resultados del cálculo de parámetros del CHA bovino de 5 cóndilos, obtenidos mediante ensayo de esfuerzo de relajación, en donde se enlistan los siguientes valores: del coeficiente difusivo de permeabilidad (k_0), el módulo agregado (H_a), el coeficiente de linealidad de la permeabilidad (M) (adimensional), el tiempo que tarda en comprimir del (10-20) % (t_0), su espesor (h), y el promedio de las 5 medidas con su desviación estándar.

Cóndilo Bovino		k_0 ($10^{-3} \frac{mm^4}{N*s}$)	H_a (MPa)	M	t_0 (s)	h (mm)
1	Medial	10.70	0.45	9.44	23.57	1.96
	Lateral	20.40	0.23	8.59	17.44	1.45
	Surco	19.07	0.48	9.60	19.15	1.59
2	Medial	1.12	0.30	12.02	20.71	1.75
	Lateral	1.33	3.23	16.69	24.54	1.70
	Surco	15.90	0.13	8.85	14.49	1.20
3	Medial	9.92	0.27	9.70	20.81	1.73
	Lateral	8.99	0.34	10.60	23.22	1.73
	Surco	1.33	0.23	10.60	44.14	3.67
4	Medial	39.56	1.20	9.90	21.47	1.78
	Lateral	12.19	0.25	9.86	19.62	1.63
	Surco	18.70	0.32	7.66	19.83	1.65
5	Medial	10.79	0.25	9.07	20.37	1.68
	Lateral	8.92	0.21	8.54	24.06	2.00
	Surco	7.97	0.26	9.16	25.72	2.14
Promedio	Medial	14.41±13.08	0.49±0.36	10.02±1.03	21.38±1.14	1.78±0.09
	Lateral	10.36±6.15	0.85±1.18	10.85±3.01	21.77±2.77	1.70±0.17
	Surco	12.59±6.90	0.28±0.11	9.17±0.96	24.66±10.37	2.05±0.86

En este estudio se consideró $n=5$ en ambas especies, comparando módulo agregado y permeabilidad de cóndilo porcino y bovino. Athanasiou K. A. y colaboradores en 1991⁸⁷, compararon mediciones de módulo agregado y permeabilidad de especies distintas de animales, con los resultados obtenidos en éste trabajo se comparan las especies de bovino reportadas en la literatura por Athanasiou en la Tabla 10.

Tabla 10. Datos obtenidos por Athanasiou de bovino, comparado con los resultados obtenidos en este trabajo, el cual reporta los valores medidos de las zonas anatómicas (medial, lateral y surco): módulo agregado (Ha), permeabilidad (ko), espesor (h) y el valor del promedio con su desviación estándar de cóndilos caracterizados mediante la teoría de Van C. Mow⁴⁴.

Cóndilo Bovino		ko ($10^{-3} \frac{mm^4}{N*s}$)	Ha (MPa)	h (mm)
Estudio de Athanasiou ⁸⁷	Medial n=10	0.45±0.33	0.89±0.42	1.19±0.24
	Lateral n=10	0.42±0.19	0.89±0.29	0.94±0.17
	Surco n=10	1.42±0.58	0.47±0.14	1.38±0.19
Estudio actual	Medial n=5	14.41±13.08	0.49±0.36	1.78±0.09
	Lateral n=5	10.36±6.15	0.85±1.18	1.70±0.17
	Surco n=5	12.59±6.90	0.28±0.11	2.05±0.86

Desconocemos los antecedentes de la materia prima de éste estudio, por lo que se atribuye que las diferencias posibles en los valores obtenidos, es causada por el amplio rango posible de poseer materiales originarios de distintas características físicas y de edad del animal, que podrían explicar la variación en las 5 muestras analizadas de los 3 zonas consideradas de las muestras bovinos que se presenta en la Tabla 10.

Las altas permeabilidades (ko) explican el bajo módulo agregado (Ha) en comparación con el estudio previo reportado por Athanasiou que obtuvo valores mayores, además de utilizar distintos métodos de compresión, en el estudio reportado se utilizó la prueba de indentación y en el estudio presente se realizaron pruebas de compresión confinada. Se han encontrado diferencias en los valores reportados con estas dos distintas técnicas¹⁸.

Por otro lado el espesor no tiene influencia en las propiedades mecánicas de compresión, además las zonas del cóndilo (medial, lateral y surco) son muy heterogéneas en su espesor (el espesor no es el mismo en toda la zona), es difícil determinar un espesor preciso⁸⁷.

4.2.- Compresión confinada: Fluencia

Los valores de permeabilidad y módulo agregado fueron obtenidos mediante el análisis de la curva de fluencia en compresión confinada, en probetas de CHA porcino y bovino como se muestra en la Figura 23, se realizó el ajuste de parámetros en la curva de fluencia con el Software Origin 2022b, usando las ecuaciones 3 y 4 para determinar los parámetros de cada especie, resumidas en las Tablas 11 y 12.

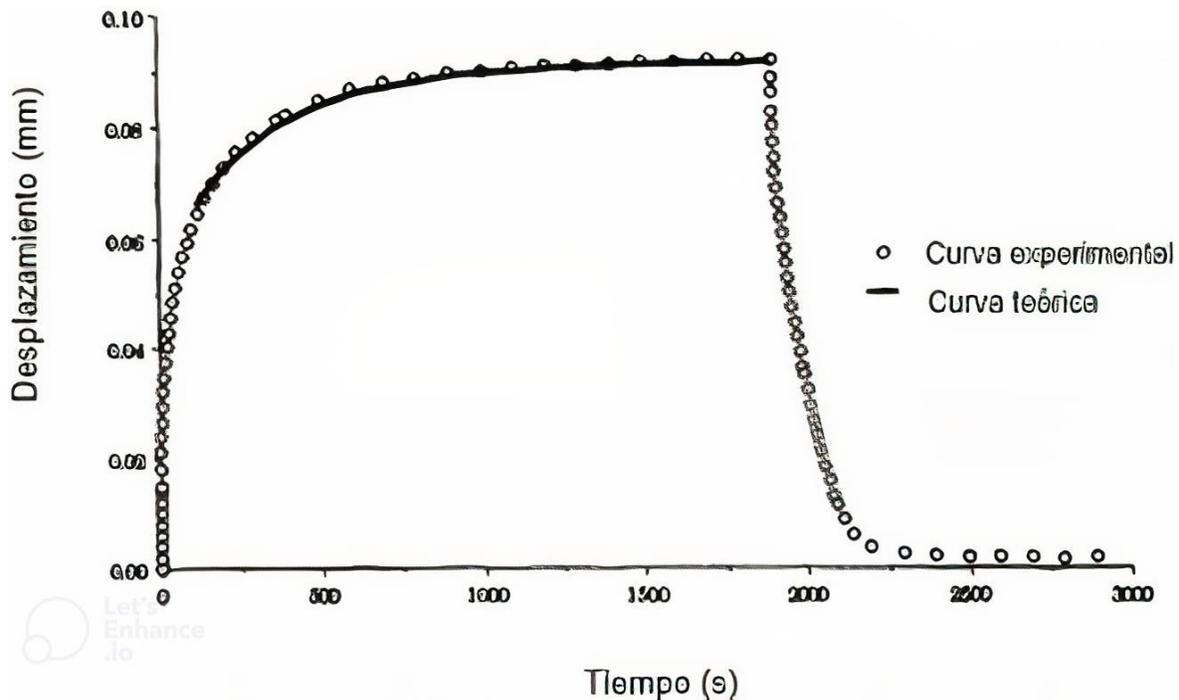


Figura 23. Ajuste de curvas de fluencia empleado para el cálculo del módulo agregado y la permeabilidad¹⁰.

El análisis estadístico U Mann-Whitney para compresión confinada de fluencia, esperaría diferencias no significativas como lo mostró el resultado estadístico del ensayo de relajación del esfuerzo anteriormente. Ateshian G. A. y colaboradores en 1997 determinaron los coeficientes de permeabilidad a partir de experimentos de fluencia y determinaron que eran significativamente diferentes de los valores calculados a partir de los experimentos relajación de esfuerzo⁶³.

Tabla 11. Resultados del cálculo de parámetros de 10 probetas 5 de cada cóndilo porcino, obtenidos mediante ensayo de fluencia, en donde se enlistan los siguientes valores: el coeficiente difusivo de permeabilidad (k_o), el módulo agregado (H_a), el coeficiente de linealidad de la permeabilidad (M) (adimensional), deformación inducida por el tiempo a 1 MPa (ϵ_o), su espesor (h) y el promedio de las 5 medidas con su desviación estándar.

Cóndilo Porcino	k_o ($10^{-3} \frac{mm^4}{N * s}$)	H_a (MPa)	M	ϵ_o (%)	h (mm)
1	1.89	0.62	2.63	39.30	2.56
2	1.89	0.62	2.63	49.30	2.22
3	2.04	0.47	2.46	50.00	2.51
4	2.04	0.46	2.46	57.40	3.18
5	2.68	0.27	1.34	62.80	2.90
Promedio	2.10±0.29	0.49±0.12	2.30±0.48	51.76±7.97	2.67±0.33

La diferencia entre la permeabilidad y módulo agregado entre CHA porcino y bovino, es estadísticamente significativa, con un valor $p=0.020$ para k_o y $p=0.008$ para H_a ($p<0.05$) indica que un valor seleccionado al azar porcino no es igual a un valor seleccionado al azar bovino.

La diferencia entre la prueba de fluencia y esfuerzo de relajación, depende de las deformaciones obtenidas en cada ensayo, en fluencia las deformaciones rebasan 20 % y en esfuerzo de relajación se induce la deformación hasta el 20 %.

Tabla 12. Resultados del cálculo de parámetros de 10 probetas 5 de cada cóndilo bovino, obtenidos mediante ensayo de fluencia, en donde se enlistan los siguientes valores: el coeficiente difusivo de permeabilidad (k_o), el módulo agregado (H_a), el coeficiente de linealidad de la permeabilidad (M) (adimensional), deformación inducida por el tiempo a 1 MPa (ϵ_o), su espesor (h) y el promedio de las 5 medidas con su desviación estándar.

Cóndilo Bovino	k_o ($10^{-3} \frac{mm^4}{N * s}$)	H_a (MPa)	M	ϵ_o (%)	h (mm)
1	2.62	0.89	2.91	51.90	1.51
2	5.00	2.85	25.80	26.20	1.75
3	5.50	2.27	24.30	27.90	1.78
4	12.50	0.77	13.83	51.40	1.76
5	6.06	0.76	15.25	53.60	1.85
Promedio	6.33±3.29	1.51±0.87	16.41±8.25	42.20±12.40	1.73±0.11

Los resultados obtenidos fueron comparados con estudios previos en donde caracterizaron los parámetros de Ha y ko en CHA porcino y bovino, mediante la teoría bifásica de Van C. Mow, a continuación en la Tabla 13.

Tabla 13. Datos comparados de módulo agregado (Ha) y permeabilidad (ko) encontrados en la literatura de especies bovino y porcino, parámetros obtenidos mediante la teoría bifásica de Van C. Mow, dando como resultado diferencias no significativas y alentadoras al uso de bovino y porcino como guía estándar en pruebas mecánicas de compresión mediante la norma ASTM F2451-05, para guiar al diseño de andamios adecuados que ayuden a reparar CHA.

Cóndilo Bovino		Cóndilo Porcino	
ko $(10^{-3} \frac{mm^4}{N*s})$	Ha (MPa)	ko $(10^{-3} \frac{mm^4}{N*s})$	Ha (MPa)
0.43 ⁵	0.89 Lateral ⁵	---	0.40 Surco ⁷⁶
1.42 ⁵	0.47 Surco ⁵	5.24*	0.45 Lateral*
---	0.56 ⁹⁰ -----	2.71*	0.27 Surco*
10.36*	0.85 Lateral*		
12.59*	0.28 Surco*		
Estudio reportado	Surco o Lateral ^{No. Referencia}	Estudio reportado	Surco o Lateral ^{No. Referencia}
Estudio actual	Surco o Lateral*	Estudio actual	Surco o Lateral*

El comportamiento mecánico se atribuye a la organización estructural del material y la interacción entre sus componentes (agua, colágeno y proteoglicanos), una alteración en alguno de ellos manifiesta de manera atípica su capacidad mecánica de compresión. La diferencia de las propiedades entre los materiales depende de la especie, su composición, edad, estado de salud y desgaste.

Las condiciones mecánicas en el tejido alterado o dañado no tiene capacidad de disipar cargas mecánicas, por ende en la reparación del cartílago, el tejido nativo y el andamio deben tener viscoelasticidades similares y preferentemente iguales, ya que la diferencia de cargas ocasiona en la interfase tensiones residuales en la unión.

La carga mecánica diferida podría interrumpir la integración y por consecuencia la reparación^{91, 92}, los resultados del presente estudio presentan un comportamiento viscoelástico que se podría llegar a imitar, es decir, es una tendencia para predecir el comportamiento mecánico de un andamio con finalidad a reparar un defecto de CHA.

Los valores con diferencia no significativa al llegar a un 20 % de deformación inducido (condiciones preestablecidas para el método experimental¹⁰) de acuerdo a los ensayos de esfuerzo de relajación, dan un rango específico para guiar un diseño de material con un valor de parámetros de permeabilidad y módulo agregado. La esencia de la ingeniería de tejidos implica:

- 1) Comprender las propiedades biomecánicas de los tejidos nativos.
- 2) Priorización de propiedades biomecánicas específicas como parámetros de diseño.
- 3) Medición o predicción de esfuerzos y deformaciones in vivo (entre otros parámetros biomecánicos (tensión, lubricación, torque, cizallamiento) en tejidos nativos y en reparación.
- 4) Investigación de los efectos de factores mecánicos en la reparación de tejidos in vivo
- 5) El uso de estímulos físicos para potenciar la regeneración tisular in vitro⁶⁷.

Los presentes resultados son el primer paso de la comprensión, medición y predicción de las propiedades mecánicas de compresión de CHA para contemplar parámetros de diseño en futuras investigaciones, es necesario complementar con más experimentos, incluir interacciones mecánicas distintas y cuantificar colágeno II y glucosaminoglicanos.

4.3.- Análisis de compresión confinada

4.3.1.- Córdilo 1 Porcino-Bovino; esfuerzo de relajación y fluencia

El esfuerzo de relajación porcino y bovino en sus 3 distintas zonas del cóndilo femoral se compara en la Figura 24. La compresión del cartílago mostró un comportamiento reproducible con el protocolo de compresión al deformar escalonadamente primero a un 10 % y seguido al 20 % (determinado en base a su deformación cotidiana mencionada en el punto 2.5.1.- Compresión). El CHA tiene distinta composición a largo de su espesor, haciendo énfasis en la gran cantidad de agua presente en la superficie y menor cantidad de proteoglicanos, a diferencia de su zona intermedia y profunda, resultando menor resistencia a la compresión en el rango de (0-10) % de su espesor (h). El comportamiento del esfuerzo experimental confirma que a mayor deformación, presenta mayor resistencia a la compresión, ésta se observa en los mayores esfuerzos de la gráfica, debido al acercamiento de proteoglicanos al expulsar el agua de la matriz y disminuir su volumen.

La teoría bifásica de Van C. Mow ajustó con éxito las ecuaciones 1, 2, 3 y 4 (página 48-50) el comportamiento experimental de los componentes líquido y sólido del CHA y sus interacciones con éxito. La resistencia a la compresión (el esfuerzo máximo alcanzado) es una medida que describe la interacción del proteoglicano con el agua, pero la rigidez del cartílago, es decir, el módulo agregado (H_a) es una medida que relaciona la interacción del sólido (colágeno-proteoglicano) y líquido (agua) después de un cambio de volumen, la disipación de la carga expulsa el agua de la matriz de CHA, resaltando la capacidad del CHA de disipar cargas, propiedad que lo hace un material único.

Los resultados en la Figura 24 muestran un comportamiento de relajación del esfuerzo similar para las 3 zonas del cóndilo 1 porcino y para el cóndilo 1 bovino difiere entre zonas, zona medial con mayor lectura de esfuerzo y menor en CHA lateral. Éstas diferentes lecturas de capacidades compresivas del cartílago bovino describen interacciones entre su estructura, posible resultado de su desarrollo en la vida del animal.

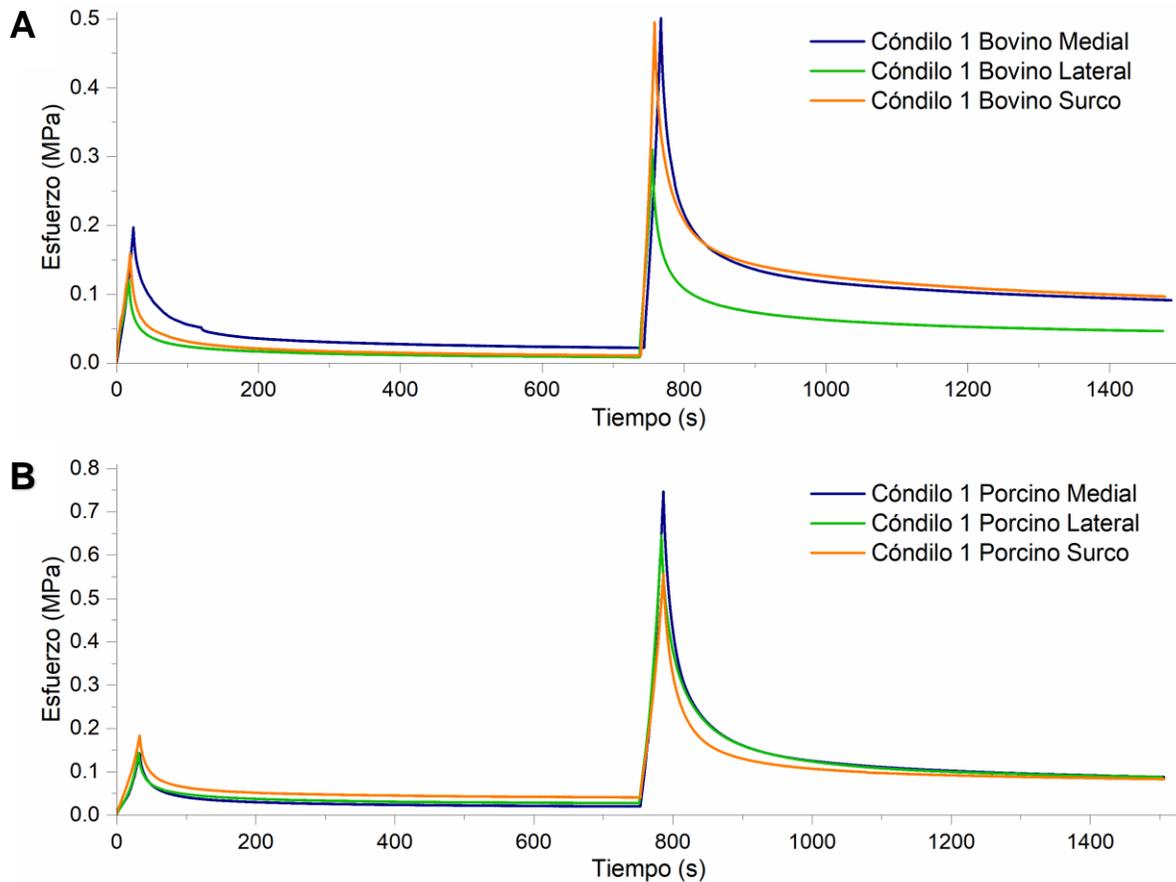


Figura 24. En la parte superior se muestra el comportamiento del cóndilo 1 bovino (A), el cual difiere entre zonas y muestra dos fases de compresión y dos de relajación al esfuerzo, una al 10 % de deformación y la segunda al 20 %, mostrando distintas capacidades de resistencia a la compresión y relajación del esfuerzo. En la parte inferior (B) se observa el comportamiento del cóndilo 1 porcino de la misma manera en sus interacciones son en distintas deformaciones, pero las capacidades difieren en resistencia a la compresión y se igualan en rigidez únicamente al 20 % de deformación.

La facilidad del flujo del agua mediante la matriz es descrita por su permeabilidad ver Figura 25, al inducir deformaciones en la matriz del CHA se reduce el tamaño de poro de acuerdo a la literatura⁵⁰ y se acercan más las moléculas de glucosaminoglicanos (contenidas en los proteoglicanos), dando como resultado una sinergia de su carga negativa atrayendo más al agua. La compactación del cartílago no solo está gobernada por la pérdida de agua y reducción de volumen, los proteoglicanos están restringidos por la red de colágeno⁵⁰, ésta red es clave al densificar glucosaminoglicanos ya que entre más moléculas envuelva y se compriman ambas estructuras mayor resistencia a la carga mostrará.

El parámetro M describe la linealidad de la permeabilidad y su probable dispersión de proteoglicano en la red de colágeno, una pendiente lineal puede indicar una matriz sólida entre colágeno-proteoglicano y una pendiente no lineal puede indicar un grado de dispersión de proteoglicano o disminución de éste en el contenido del mismo (ver Figura 25).

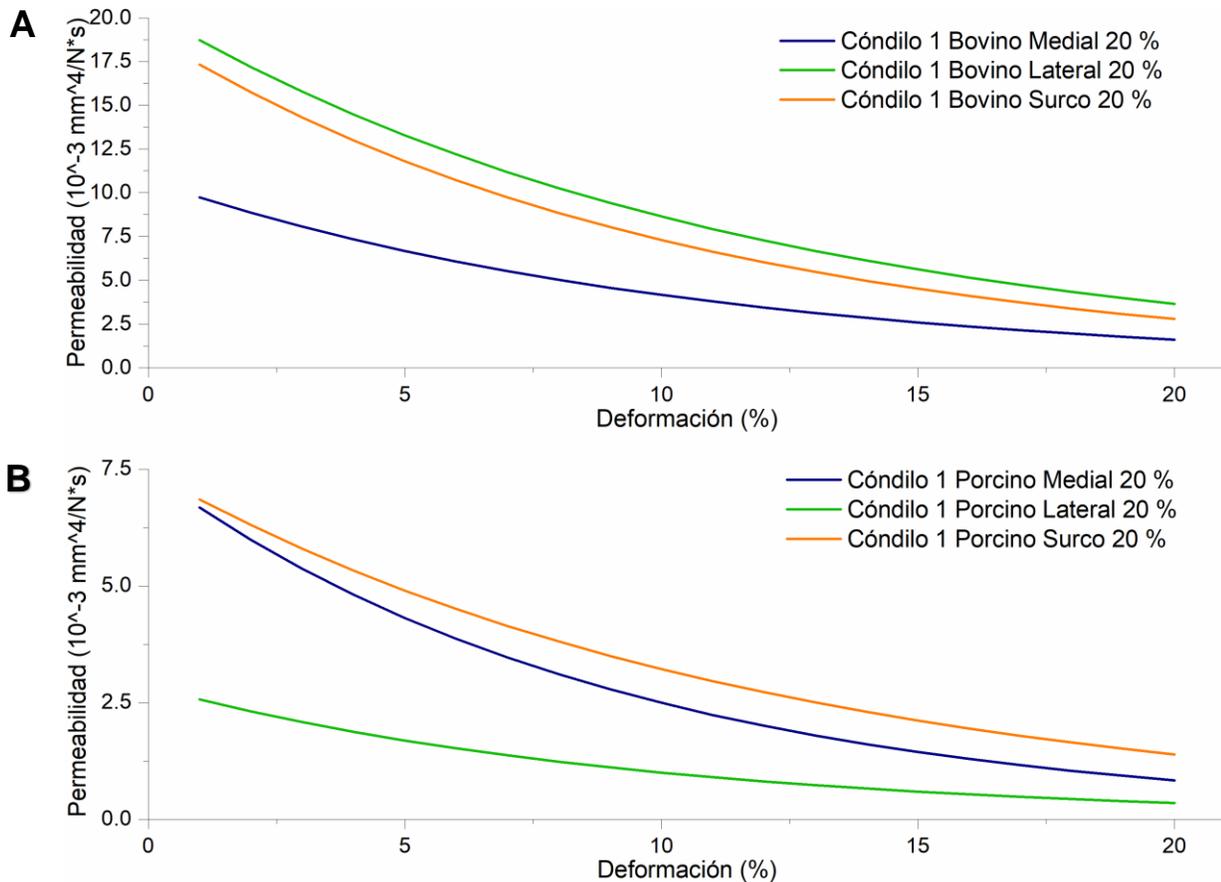


Figura 25. Permeabilidad del cóndilo 1 bovino mostrada en la parte superior (A) y porcino parte inferior (B) en la fase de compresión, se muestra disminución del valor de la permeabilidad al aumentar la deformación. En la parte superior se observa un comportamiento diferido de la zona lateral y el surco a diferencia de la medial y en la parte inferior se muestra diferencia de la zona medial debido a su mayor dispersión de proteoglicanos pero en deformaciones mayores al 15 % densifican con éxito y resiste al flujo de fluido.

Las permeabilidad del cóndilo bovino 1 (Figura 25 (A)) demuestra relación entre resistencia a la compresión y ésta, observando más resistencia a la compresión a bajas permeabilidades, a diferencia del cóndilo porcino 1 que no muestra la misma relación.

La lectura de permeabilidad en función de la deformación, no es similar en las 3 zonas, es decir, la composición puede diferir en el cóndilo porcino y por tanto no muestra otro patrón en su resistencia mecánica. La grafica (Figura 24 (B)) describe una similitud de rigidez (H_a), a distintos comportamientos de permeabilidad en el rango de la capa superior del espesor del espécimen (0-20) %.

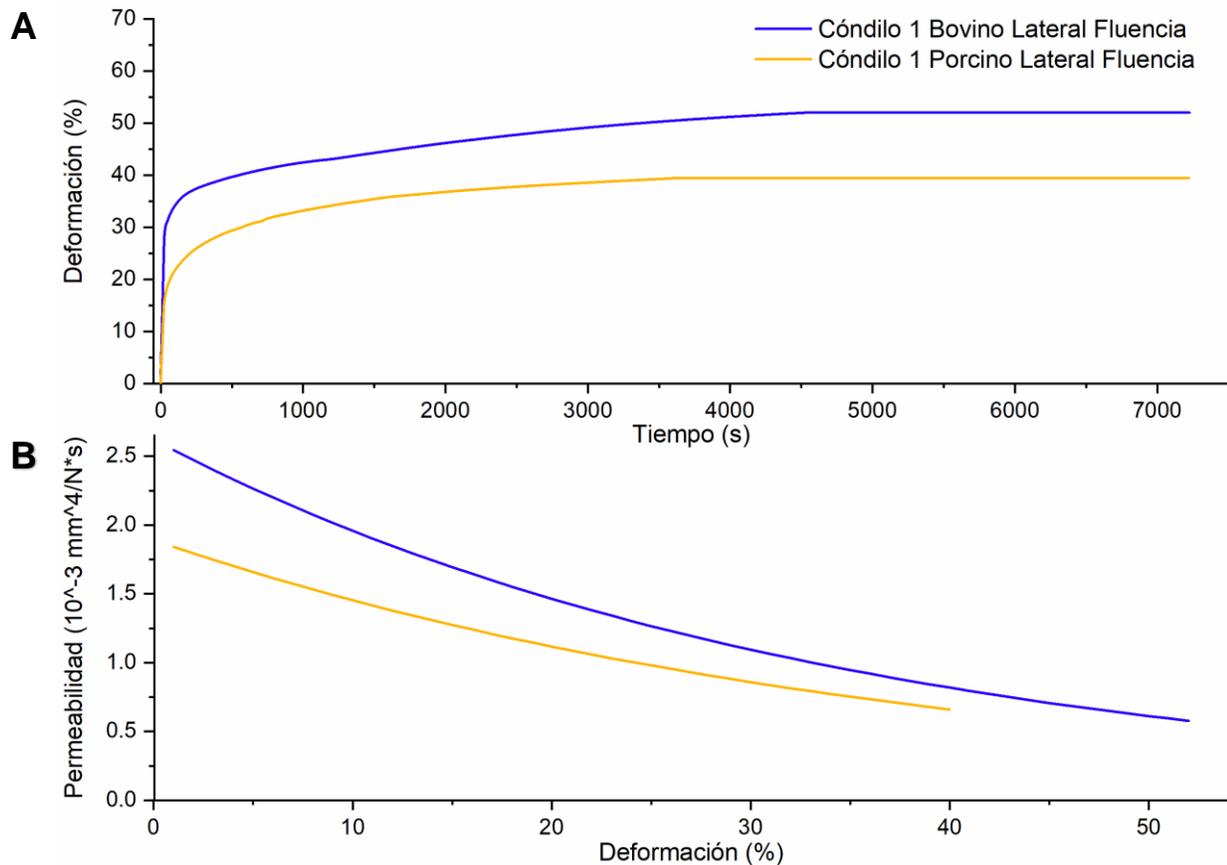


Figura 26. Comportamiento de fluencia (A) y permeabilidad (B) de bovino (amarillo) y porcino (azul), la fluencia de la probeta porcina mostró menor deformación y alcanza el equilibrio en menor tiempo en comparación con la probeta bovina.

El comportamiento de la curva de fluencia (ver Figura 26 (A)) y los valores registrados de permeabilidad se relacionan con su resistencia a la compresión en la Figura 24, la fluencia de la probeta bovina indica la posibilidad de mayor dispersión de proteoglicanos en la red de colágeno en su matriz, en comparación con la probeta porcina, el resultado describe la rigidez mostrada en la curva de fluencia al llegar al equilibrio y mantiene una deformación baja, su cambio mínimo de permeabilidad (Figura 26) corrobora un comportamiento resistente a la compresión.

4.3.2.- Cóndilo 2 Porcino-Bovino; esfuerzo de relajación y fluencia

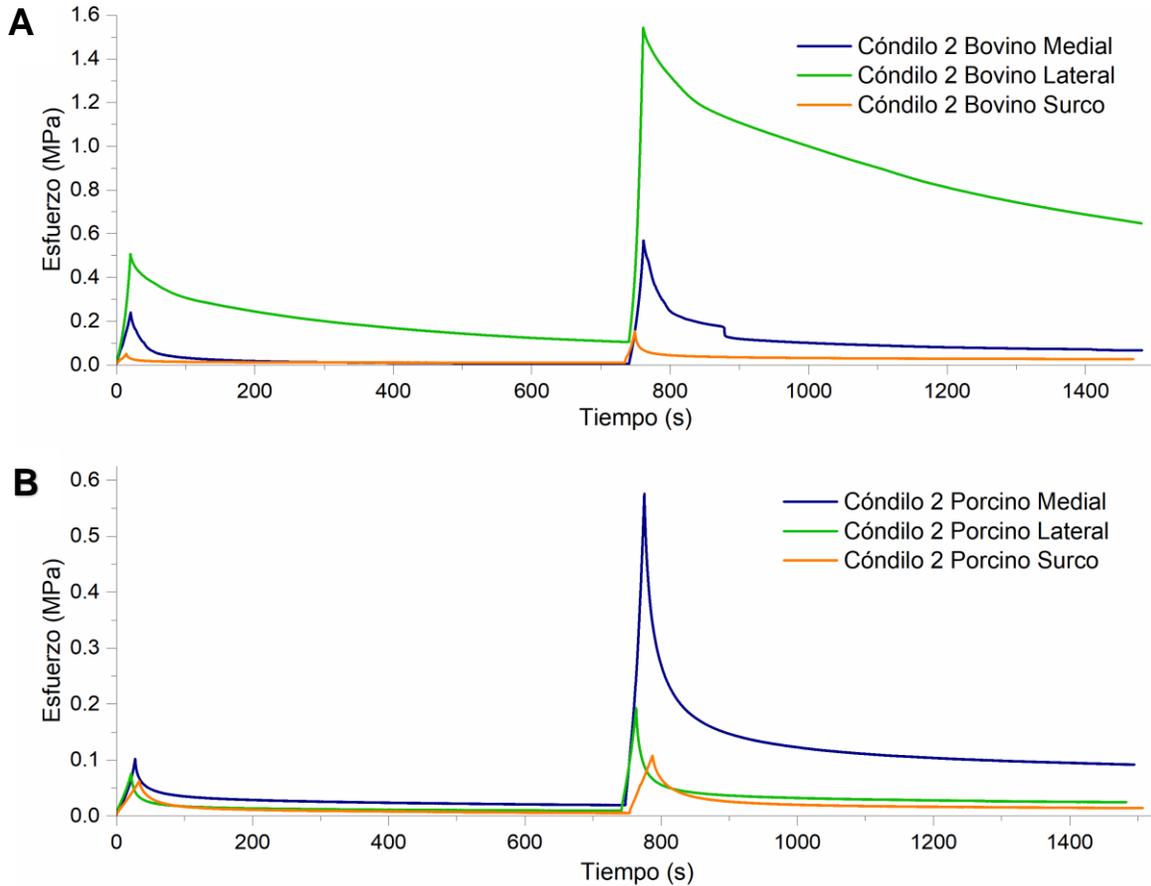


Figura 27. En la parte superior se muestra el comportamiento de las 3 zonas del cóndilo 2 bovino (A), mostrando diferencias de resistencia a la compresión y relajación del esfuerzo muy diferidas al 10 % de deformación y la segunda al 20 % muestra comportamientos atípicos de relajación del esfuerzo, indicando una posible alteración en su matriz del CHA. En la parte inferior se observa el comportamiento del cóndilo 2 porcino (B) de manera que en sus interacciones la zona medial muestra mayor capacidad de resistir a la compresión y mayor rigidez a diferencia del surco y lateral.

El comportamiento de la relajación de esfuerzos del cóndilo 2 (ver Figura 27) muestra en porcino (B) como en bovino (A) una diferencia de esfuerzo a la compresión (1 MPa en bovino y 0.45 MPa en porcino) notoria en comparación con 2 zonas, el comportamiento de las probetas bovinas indican que la relajación del esfuerzo es anormal (no relaja el esfuerzo de manera uniforme), éste comportamiento indica una posible alteración en su matriz sólida, altas tensiones en estos tejidos, o alteraciones en los patrones de relajación de esfuerzo, resultantes de lesiones, daño tisular acumulado o posible osteoartritis⁴⁵.

La manifestación de una alteración en la matriz es posible, tanto en comportamiento de compresión, relajación y bajos valores de resistencia a la compresión, la causa es desconocida por falta de información del origen e historial de la materia prima, los resultados presentan un comportamiento que corroboran fenómenos reportados en la literatura⁴⁵.

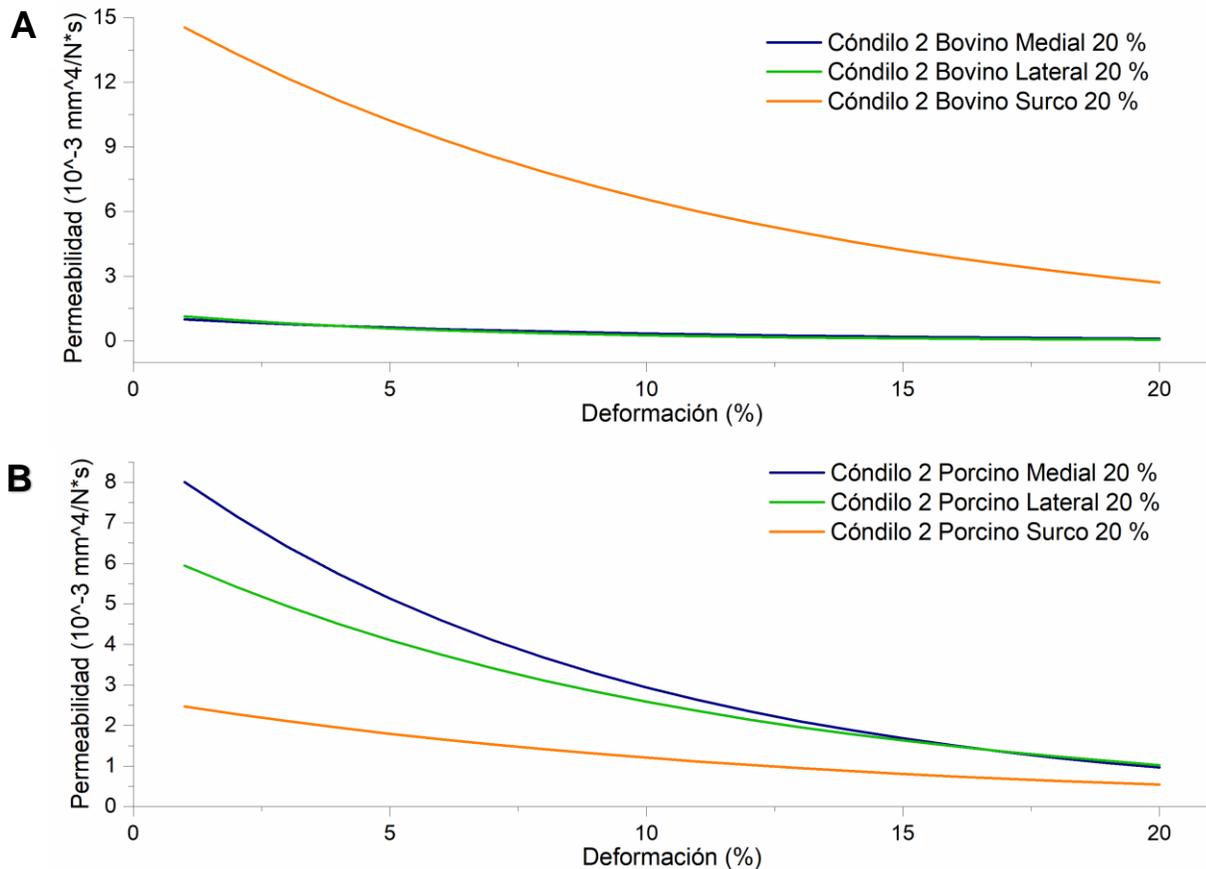


Figura 28. En la parte superior se muestra la permeabilidad del cóndilo 2 bovino (A) en donde las zonas medial y lateral se comportan casi lineal y el surco muestra cambio de permeabilidad debido a interacciones en la matriz del CHA, en cambio el porcino en la parte inferior (B) en la fase de compresión, se muestra disminución del valor de la permeabilidad al aumentar la deformación, notoriamente en el medial y lateral, de la misma manera que el medial bovino el surco no muestra grandes cambios de permeabilidad.

La permeabilidad del cóndilo 2 (ver Figura 28) presentó resultados que relacionan el comportamiento de la permeabilidad con su interacción entre fase líquida y sólida, por ejemplo, el cartílago de las zonas medial y lateral bovina no presentan cambios en su permeabilidad al aumentar la deformación, indicando que no hay cambios considerables en relación a su contenido de proteoglicanos dependientes de la profundidad.

La curva de relajación de esfuerzos presenta comportamiento atípico en la relajación y su resistencia a la compresión es debida a daño acumulado en el tejido de acuerdo con Van C. Mow y colaboradores⁴⁵.

A diferencia de los dos surcos bovino y porcino, la permeabilidad es la más alta en el surco bovino y la más baja en el surco porcino, el surco bovino concuerda con su alta permeabilidad y menor resistencia a la compresión y el surco porcino tiene menor permeabilidad y baja resistencia a la compresión, la cual está influenciada no solo por la cantidad proteoglicanos, la red de colágeno que envuelve a las moléculas puede presentar disociación entre el colágeno y proteoglicano o entre el mismo colágeno, resultando en la compresión poca repulsión de proteoglicanos y baja resistencia a la carga de compresión.

El comportamiento de fluencia del cóndilo 2 (ver Figura 29) está dado por el flujo intersticial de agua a través de la matriz de cartílago, al expulsar determinada cantidad de agua la matriz opone resistencia de carga en concentraciones mayores de proteoglicano-colágeno, las deformaciones indican un historial de resistencia a la carga mecánica con distintas tasas de flujo, la resistencia a la compresión es normalmente establecida por el flujo lento de agua a través de la matriz sólida, cuando el flujo es rápido la estructura indica una alteración del material posiblemente del colágeno o disminución de proteoglicanos.

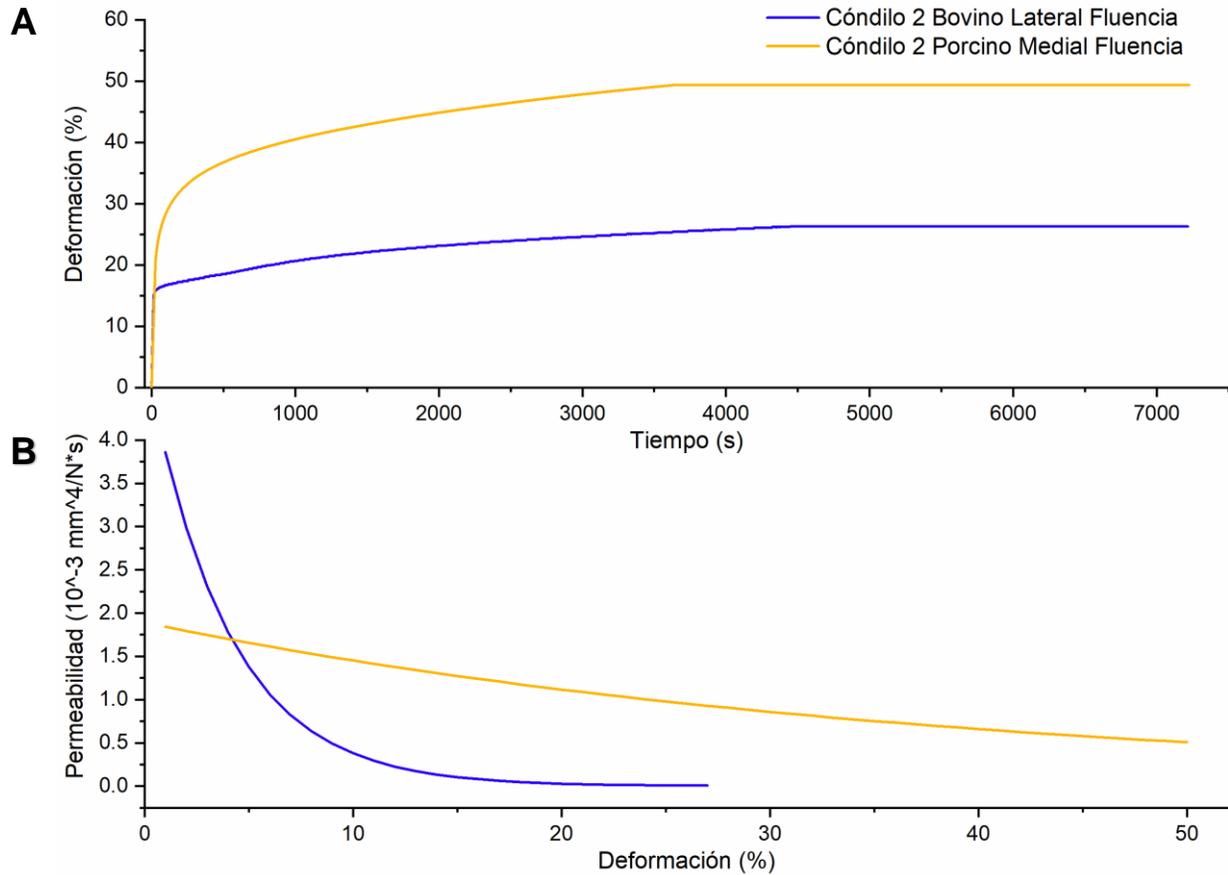


Figura 29. Comportamiento de fluencia (A) y permeabilidad (B) bovino y porcino, la fluencia de la probeta porcina muestra mayor deformación y expulsión de fluido durante todo el tiempo de fluencia, la probeta del bovino alcanza deformaciones bajas y se observa menor deformación y alcanza el equilibrio en menor tiempo en comparación con la probeta porcina, posible causa de su comportamiento de permeabilidad.

El comportamiento de permeabilidad bovino indica que este fenómeno está dado en la superficie de su espesor (0-15) %, indicando una alteración entre proteoglicano-colágeno en esa zona, y en deformaciones mayores a 15 % muestra mayor resistencia a 1 MPa de esfuerzo. Por otro lado el resultado de la fluencia del cartílago porcino muestra una tasa de flujo menor y se observa resistencia a la compresión a mayor tiempo

4.3.3.- Cóndilo 3 Porcino-Bovino; esfuerzo de relajación y fluencia

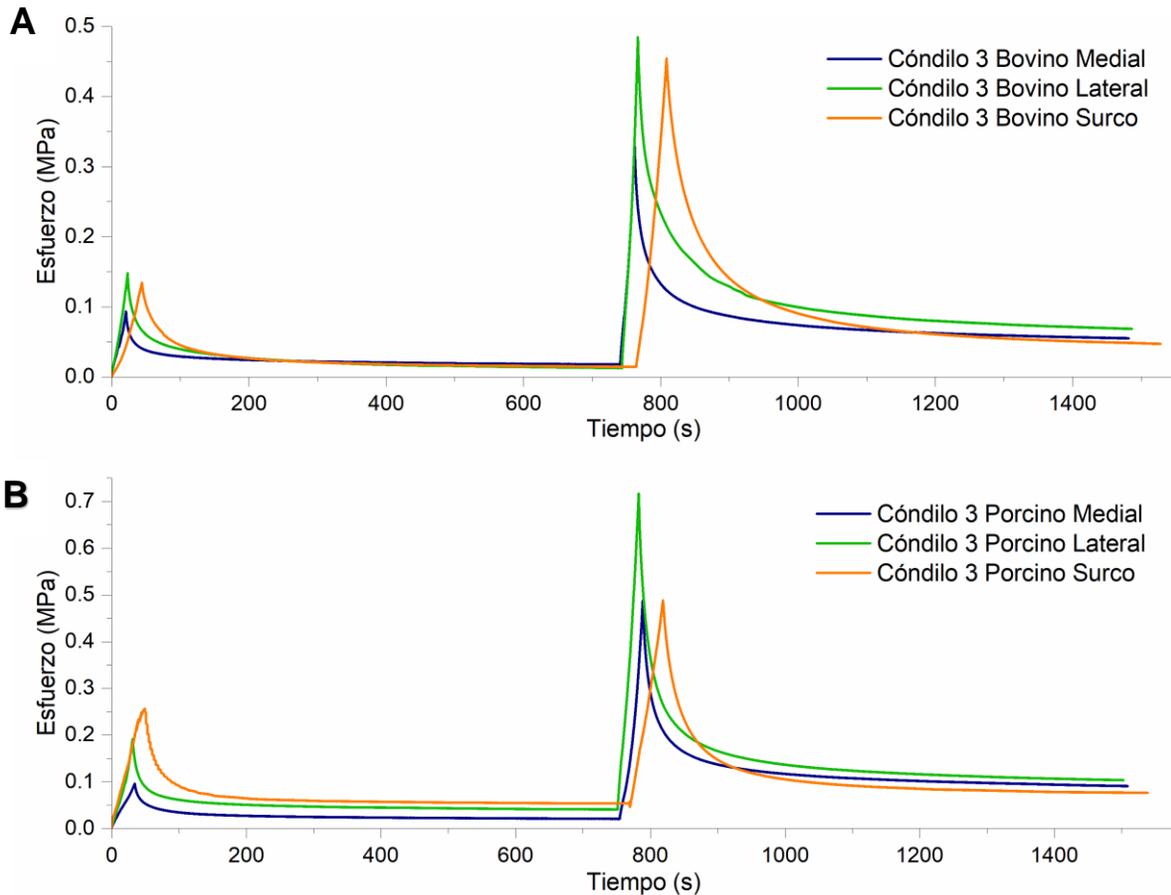


Figura 30. El cóndilo 3 bovino parte superior (A) muestra un patrón de cargas que resisten a la compresión en diferentes valores mostrando sus capacidades dependientes de la zona, el lateral muestra mayor rigidez y resistencia a la compresión. En la parte inferior se muestra el comportamiento del porcino (B) en donde se muestra diferentes resistencias a la compresión al 10% y distinta rigidez al relajar el esfuerzo, al 20 % son distintas resistencias a la compresión en otro orden y la rigidez al relajar esfuerzo de las 3 zonas difieren no significativamente.

Los resultados del cóndilo 3 (ver Figura 30) muestran un patrón que corrobora estudios reportados previamente⁸⁷ en donde los resultados muestran que zonas como la medial y lateral, que están bajo carga la mayor parte del tiempo, son más resistentes a la compresión que el surco que es considerado de carga baja, posiblemente debido a que no experimentó cargas en su desempeño.

Las propiedades mecánicas del CHA se relacionan con la composición bioquímica, la organización estructural y la interacción de las moléculas de la matriz. El módulo agregado es menor en áreas de soporte de bajo peso, en comparación con áreas de apoyo de alto peso.

Las áreas que soportan poco peso tienen un mayor contenido de colágeno y menor contenido de proteoglicanos, mientras que los de alto peso tienen una proporción mejor conformada para soportar cargas del peso del individuo a lo largo de la vida útil.

El CHA medial bovino mostró menor resistencia a la compresión, pero la zona lateral mostro el valor más alto, analizando el comportamiento en compresión y relajación, arroja datos sobre la interacción sólido (proteoglicano-colágeno) y líquido, analizando el equilibrio se observa el comportamiento del cartílago bovino, es más rígido el lateral y el menos rígido es el surco, por otro lado el comportamiento del CHA porcino muestra resistencia a la compresión al 20 % de manera equitativa, en las zonas medial y surco del cóndilo cuando relajan el esfuerzo se distingue entre el cartílago más rígido, siendo el lateral la mayor lectura el surco la menor.

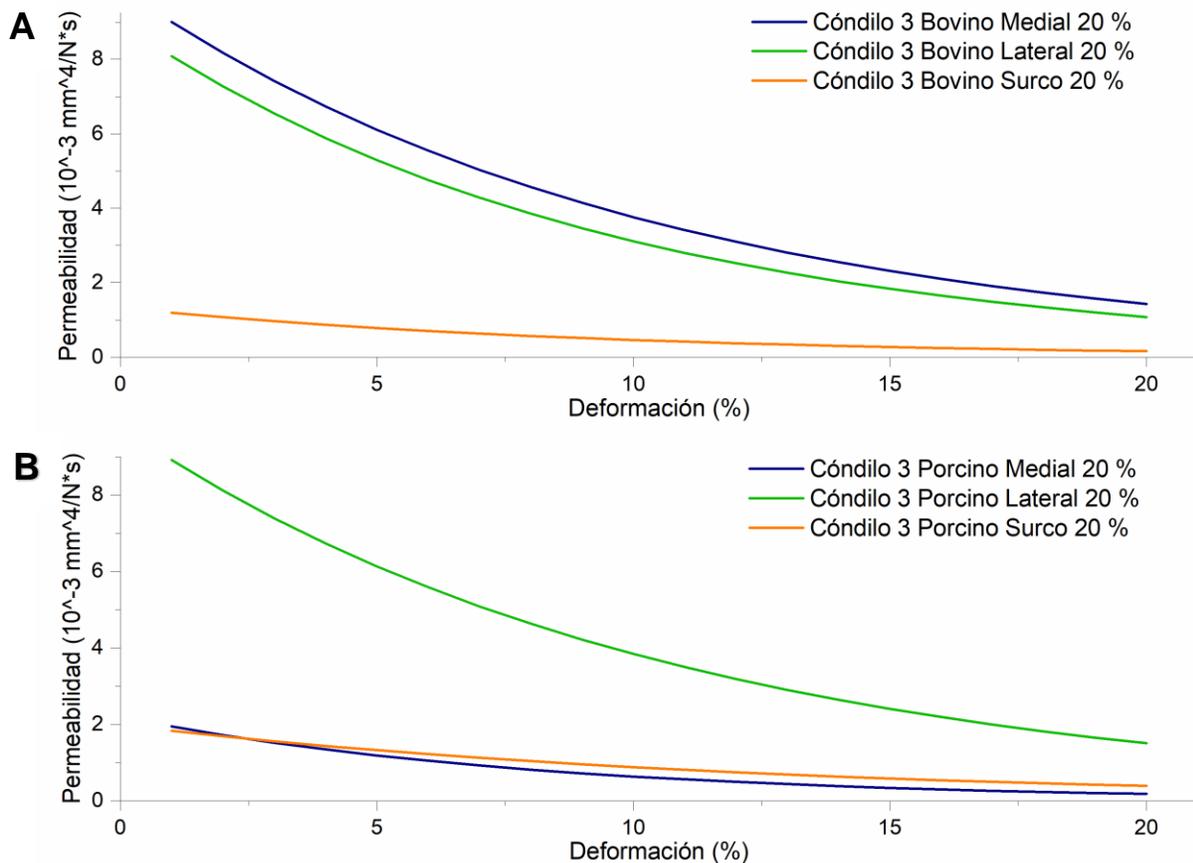


Figura 31. La parte superior describe la permeabilidad del cóndilo 3 bovino (A) en donde el surco muestra un comportamiento lineal que difiere de la zona lateral y medial que muestran similitud en el comportamiento y valor de la permeabilidad, en la parte inferior (B) el cóndilo porcino muestra mayor permeabilidad en la parte de la zona lateral, en la parte del surco y medial el comportamiento es casi lineal en ambos.

Los cambios de permeabilidad a lo largo de las deformaciones inducidas en el cóndilo 3 (ver Figura 31), indican resistencia a la compresión dentro del rango de (0-20) %, el comportamiento de relajación de esfuerzos respalda la atribución de compactación de la red de colágeno junto con los proteoglicanos, debido a que muestran picos crecientes en la resistencia a la compresión, es decir, aumenta de 10 % a 20 %. Las permeabilidades más altas expresadas en las gráficas para el CHA bovino medial y CHA porcino lateral muestran mayor dispersión de proteoglicanos, el comportamiento fue típico de relajación de esfuerzos, dentro del esfuerzo de relajación y compresión.

La teoría bifásica de Mow ayudó a describir la presurización del fluido bajo carga estática, el presente estudio determinó las predicciones teóricas de la presurización de fluidos de la teoría bifásica con éxito experimentalmente. La configuración de compresión confinada predice hasta al 100 % el comportamiento del flujo del fluido⁹³, la determinación de las propiedades y su variación a lo largo del espesor del CHA, es vital para diseñar materiales que recapitulen de manera efectiva diferentes propiedades mecánicas en los tejidos nativos en su estructura.

El comportamiento de fluencia y permeabilidad del cóndilo 3 (ver Figura 32) muestran en el CHA bovino un cambio de permeabilidad que es constante a partir de 20 %, la deformación permitida en fluencia no superó 30 % de deformación, la expulsión de agua en la parte superior no tuvo resistencia suficiente para amortiguar la compresión, en la capa superficial, es decir, se comporta como un material blando, dando posibles indicios de incapacidad para proteger la matriz sólida en zonas intermedias, sin embargo en espesores inferiores del CHA mostró resistencia al flujo de fluido llegando al equilibrio a bajas deformaciones.

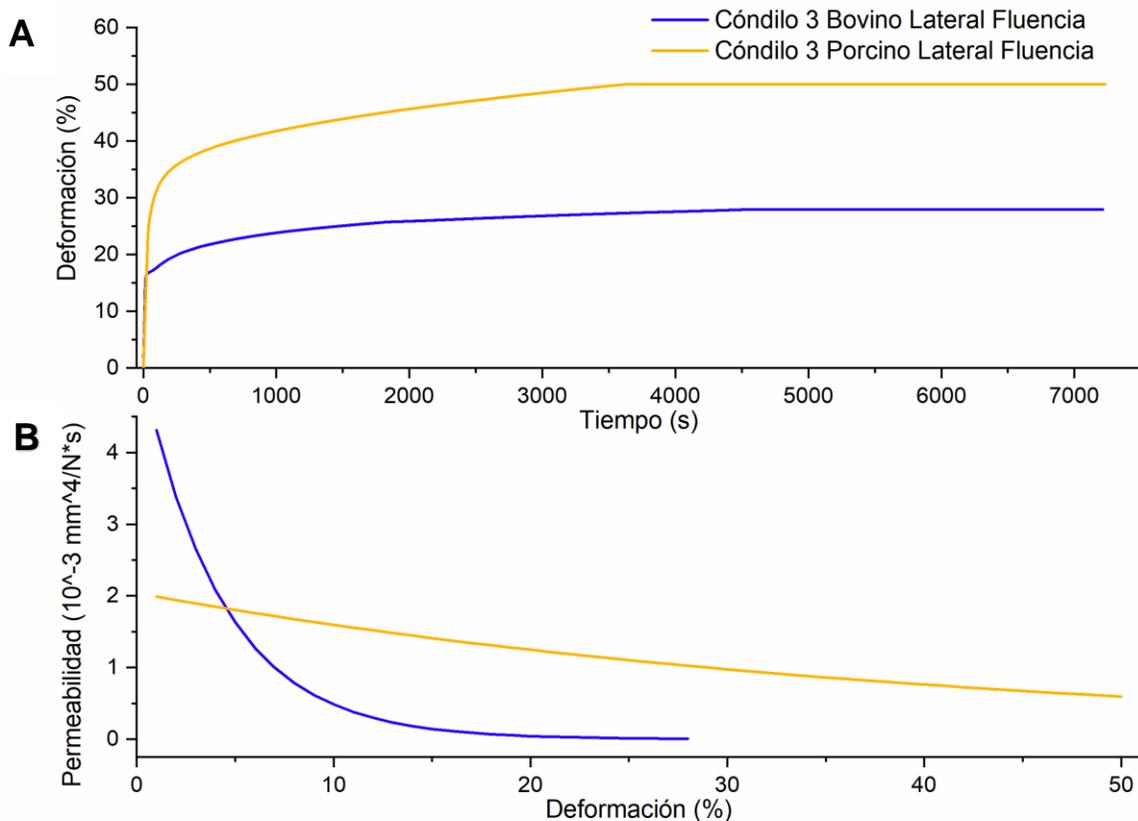


Figura 32. La fluencia (A) y permeabilidad (B) en bovino y porcino mostradas en el diagrama, la mayor deformación la alcanza el CHA porcino, la expulsión de fluido es lenta y permite la redistribución de la matriz al permitir gran cantidad de deformación, la probeta de bovino alcanza deformaciones bajas y se observa menor deformación alcanzando el equilibrio mucho más rápido que el porcino.

El material de CHA puede comenzar a ablandarse si el número de ciclos que experimentó fue muy alto y excesivo, a medida que se produce un daño y la red de colágeno podría estar disociada. En contraste el cartílago porcino muestra resistencia al flujo de fluido en todo su historial de deformación mostrando un comportamiento rígido que no llega a una exudación completa del agua, a causa de una posible matriz proteoglicano-colágeno que tiene una fuerte interacción con el agua, su deformación fue mayor con carga de 1 MPa, una carga que permitió una redistribución de la matriz, permitiendo deformar poco a poco el cartílago consecuencia de su viscoelasticidad.

En comparación estos 2 materiales no muestran tener mayor capacidad uno u otro, el presente estudio pretende determinar, predecir y comprender el comportamiento de materiales biológicos de 2 especies, en compresión confinada, las propiedades difieren debido a la edad, hábitos y condiciones de estudio.

4.3.4.- Cóndilo 4 Porcino-Bovino; esfuerzo de relajación y fluencia

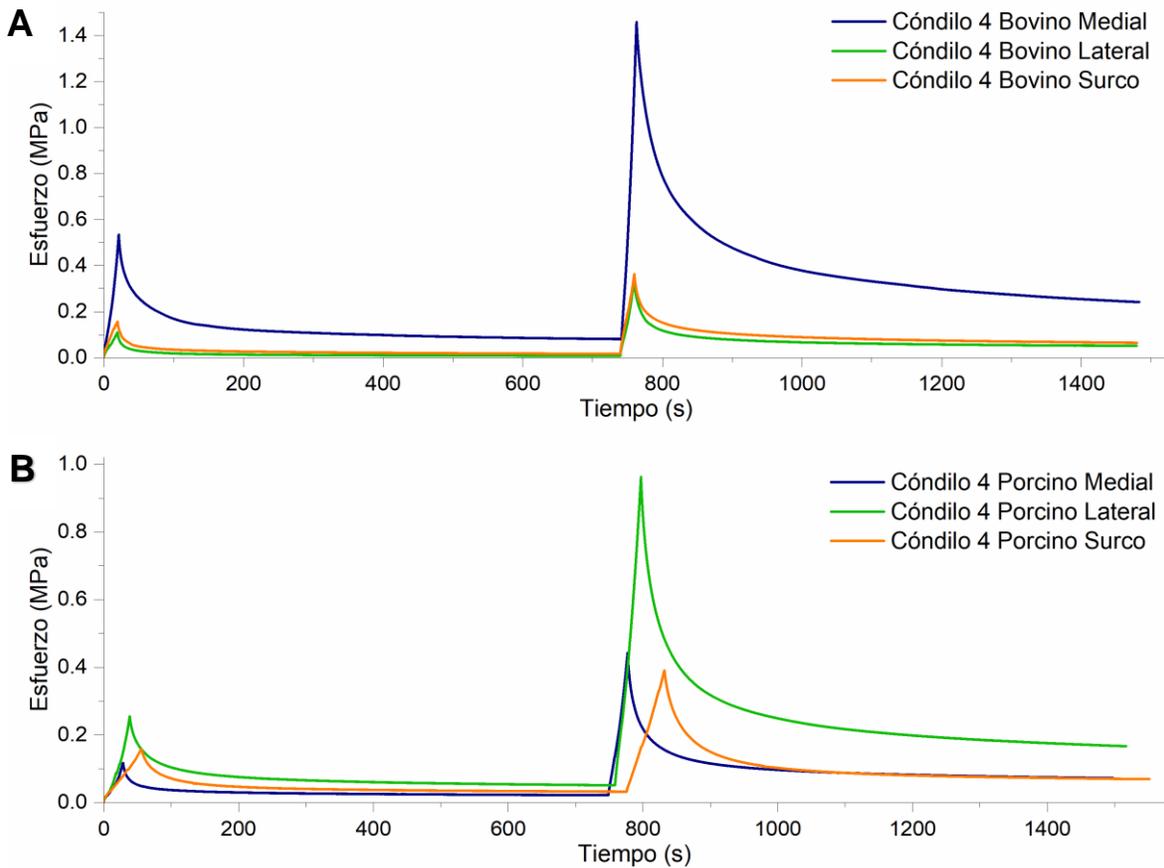


Figura 33. En la parte superior (A) se muestra un comportamiento de resistencia a la compresión y relajación del esfuerzo normal, la zona medial muestra mayor resistencia a la compresión y mayor rigidez comparado con el lateral y el surco, en la parte inferior (B) el cóndilo porcino se distingue en sus 3 zonas, el lateral es muy resistente a la compresión comprimiendo en menos tiempo, la zona medial tiene una resistencia moderada alcanzando la compresión en menor tiempo que el lateral y la parte del surco tarda más en comprimir, es notorio éste comportamiento en su deformación al 20 % (mayor lectura de los esfuerzos).

En las gráficas de esfuerzo de relajación respecto al tiempo para el cóndilo número 4 (ver Figura 33), la relajación del esfuerzo muestra una redistribución de fluidos al mantener la deformación, tanto en CHA bovino como en porcino. El CHA lateral y surco bovino no muestran aumento de resistencia a la compresión y su rigidez es similar, el cartílago de la zona lateral en teoría debería ser más resistente a la compresión, el surco no experimenta carga en su vida útil, su comportamiento similar puede estar atribuido a una alteración en su matriz.

La zona medial presentó un patrón de alta resistencia a la compresión y su relajación de esfuerzos muestra una redistribución de fluidos en su matriz, de la misma manera el cartílago lateral porcino muestra resistencia a la compresión, confirmando que las zonas de carga muestran propiedades de resistencia a la carga, el surco no muestra constantemente en este estudio esfuerzos más altos a la compresión que las otras zonas, por ende se observa un patrón de comportamiento dependiente de la zona del cóndilo.

La zona del surco y la zona medial porcina muestran 2 distintos comportamientos de compresión después de la primera relajación del esfuerzo, manifiesta distintos tiempos de compresión y resistencia a la carga, pero muestran la misma rigidez al relajar el esfuerzo experimentado en carga de compresión.

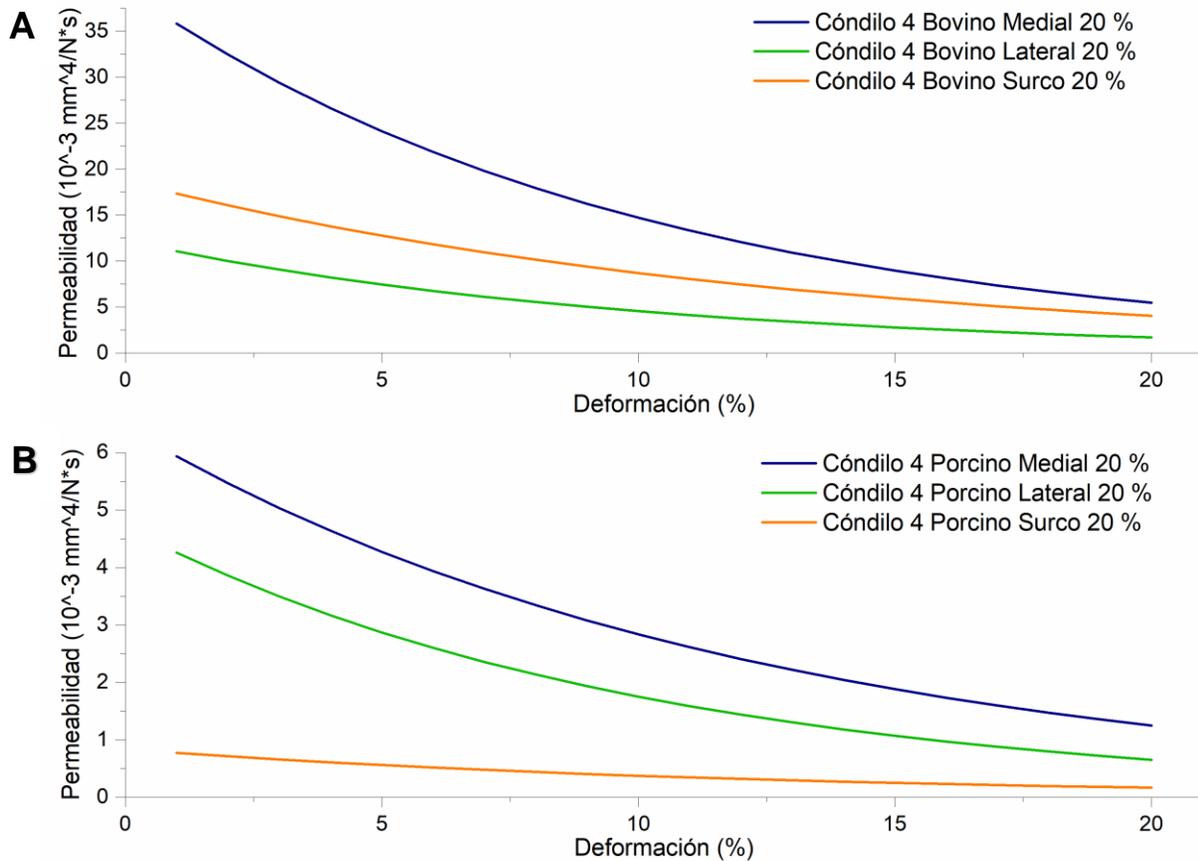


Figura 34. Permeabilidad del cóndilo 4 bovino (A) y porcino (B) en donde las zonas mediales de ambas especies en cada cóndilo muestran mayor permeabilidad, el comportamiento en el superior (A) difiere en la linealidad del surco y lateral, y en el inferior (B) el medial y lateral difieren del surco, mostrando heterogeneidad de cóndilo a cóndilo.

La permeabilidad es una medida que en ocasiones permite explicar y comprender las propiedades compresivas del CHA, los resultados de permeabilidad del cóndilo 4 (ver Figura 34) muestran que la zona del bovino lateral y el surco porcino tienen la permeabilidad más baja, por lo tanto deberían ser más resistentes a la compresión, sin embargo depende de los componentes en conjunto de su comportamiento ante cargas compresivas.

El módulo agregado de cartílago adulto se ha correlacionado positivamente con el contenido de proteoglicanos, pero también con el colágeno formando una red compuesta. Se ha determinado que el módulo agregado aumenta con la etapa de desarrollo, el colágeno no determina únicamente propiedades de tensión y resistencia del cartílago, como describe la literatura, esencialmente influye en las propiedades compresivas del CHA⁵⁷.

El aumento de la edad (edad avanzada) disminuye el contenido de colágeno, lo que explicaría las reducidas propiedades compresivas. Se ha demostrado que el cartílago articular varía en su composición y propiedades mecánicas entre sitios anatómicos medial, lateral y surco distinguiendo distintas propiedades mecánicas del cartílago, éstas determinan su orientación y composición que rigen su rendimiento mecánico⁵⁷.

El comportamiento de la permeabilidad a través de la deformación indica la expulsión del agua, que se relaciona con compresión del tejido y por lo tanto compactación e interacción con los componentes de su matriz sólida, resistiendo carga de compresión.

En la Figura 35 ambas especies muestran similitudes en el comportamiento mecánico resistente a la compresión en fluencia, la matriz del CHA bovino en fluencia muestra que a deformaciones mayores al 20 % es más resistente a deformar su matriz.

La velocidad de expulsión de líquido a través de la matriz es similar al comportamiento en la muestra de cartílago porcino, de acuerdo a la curva de permeabilidad, las diferencias que muestran al deformar a distintos valores es causa de su posible diferencia en su composición bioquímica, es necesario cuantificar colágeno y glucosaminoglicanos para conocer la correlación entre las propiedades mecánicas con su composición, pues la investigación de estas propiedades resultaría en una conclusión más sólida de cómo se comporta el CHA en compresión para el diseño de un material que ayude a su reparación.

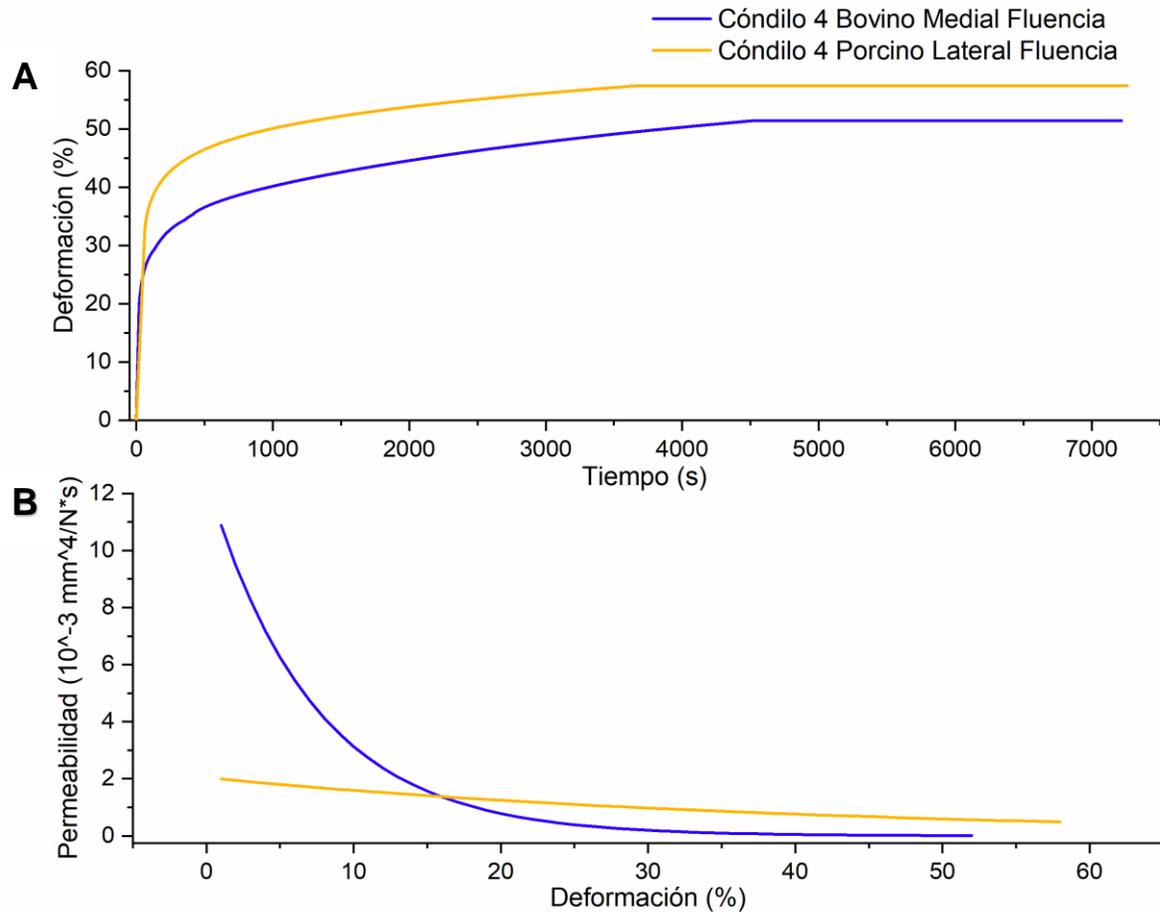


Figura 35. El cóndilo 4 muestra un comportamiento de permeabilidad (B) y valores muy similares entre especies, en fluencia (A) el CHA porcino y bovino muestran distinta capacidad de deformación posiblemente debido a su distinta composición bioquímica.

El cartílago con un alto contenido de agua sufre grandes deformaciones y grandes volúmenes de fluido son forzados a moverse dentro y fuera del tejido durante estas deformaciones.

Los resultados del cóndilo 4 comparados con los resultados del cóndilo 2 y 3 muestran un módulo agregado más bajo, la causa más probable de la disminución del módulo agregado es el aumento del contenido de agua, hay menos matriz sólida o existe matriz sólida disociada, especialmente disminución de proteoglicano y disociación de la red de colágeno dentro del volumen del CHA, que no disipa la carga de compresión aplicada para proteger la matriz sólida⁶⁶.

4.3.5.- Cóndilo 5 Porcino-Bovino; esfuerzo de relajación y fluencia

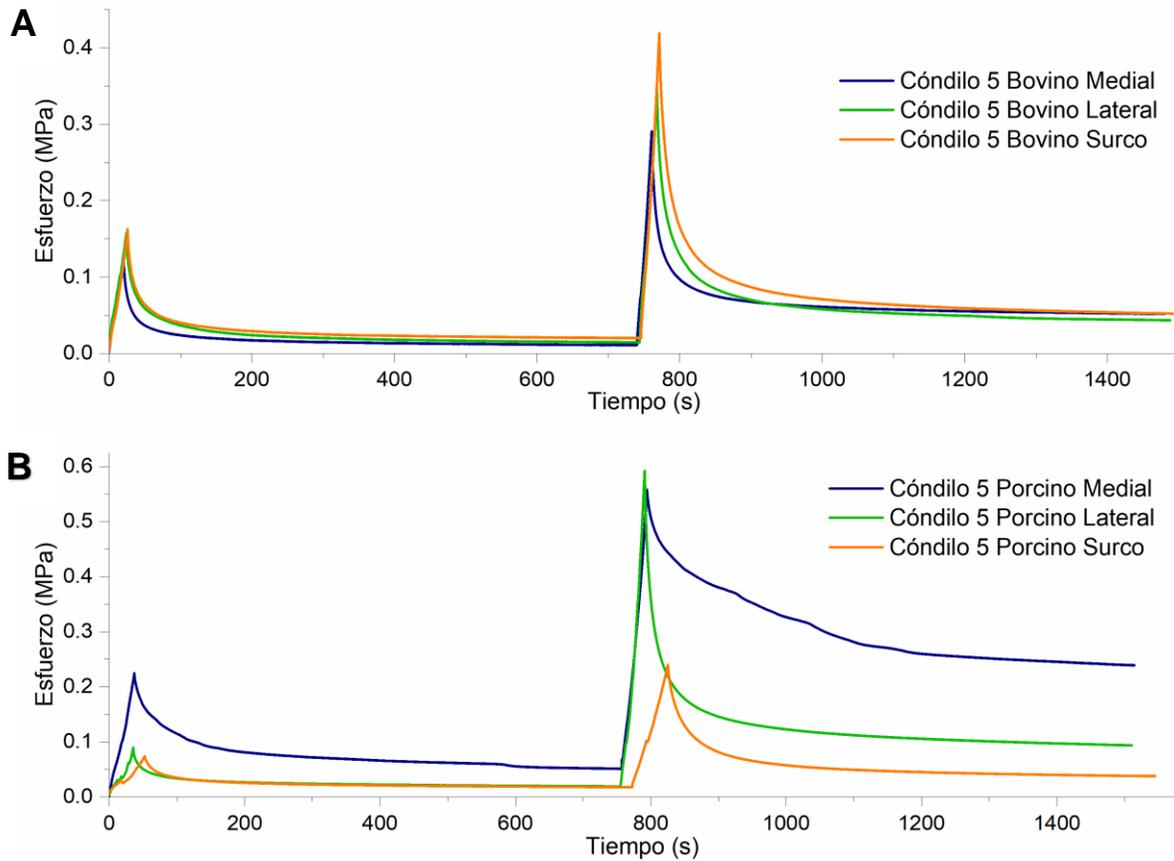


Figura 36. El cóndilo 5 bovino (A) muestra un comportamiento normal en su compresión y relajación de esfuerzo, mostrando mayor resistencia a la compresión en el surco, éste muestra rigidez similar a la zona medial cuando relajan el esfuerzo al mantener el 20 %, el cóndilo porcino (B) muestra resistencia a la compresión al 20 % pero en la relajación del esfuerzo manifiesta un comportamiento anormal indicando una posible alteración en la matriz, a diferencia de las zonas lateral y surco en donde sus comportamientos indican menor resistencia pero una interacción entre componentes normal, ofreciendo resistencia a la compresión y relajación de esfuerzo.

En el cóndilo 5 bovino se observa un comportamiento muy similar en sus distintas zonas anatómicas (ver Figura 36), a diferencia del cartílago porcino que mostró comportamientos variables en sus 3 zonas, la variación del comportamiento es causa de su distinta composición bioquímica que resulta en capacidades mecánicas distintas pero no significativas, la determinación precisa de las propiedades y su variación en tejidos es vital para diseñar materiales óptimos que reparen tejido degradado por la edad o por alguna lesión.

La relación estructura-función que da lugar al módulo agregado y la permeabilidad se podrían adaptar a un andamio para hacer coincidir las propiedades del CHA, la importancia de medir con precisión el tejido nativo y reproducir éstas propiedades mecánicas en materiales sintéticos, naturales o híbridos, se basa en la escasez de datos sobre propiedades mecánicas zonales en cartílago humano, que podría explicarse por la dificultad técnica de este tipo de mediciones.

Como se observa no solo es difícil por la heterogeneidad que muestra un cóndilo distinto a otro cóndilo, sino por la cantidad de información disponible que ayude a correlacionar la composición de cada componente con sus propiedades observadas en tensión, esfuerzo cortante y esfuerzo a la compresión, el presente estudio da inicio a investigar estas propiedades con enfoque a diseños de andamios para ayudar en la reparación del CHA.

En la Figura 36 el cartílago medial porcino relaja esfuerzos de manera no uniforme, indicando una alteración en su matriz, el comportamiento atípico mostrado en comparación del lateral y el surco describe que la zona medial puede tener propiedades de compresión muy altas, pero depende si la compresión se da solo en el material sólido (expulsión inmediata de agua) o en la interacción del sólido y líquido (expulsión del agua lenta) como lo manifiesta un tejido de CHA sano.

Los diversos comportamientos mostrados en la mecánica de compresión del cóndilo porcino se manifiestan por múltiples razones, que puede resultar una interacción que da lecturas de resistencia a compresión bajas o altas, es necesario conocer la edad y condiciones de la vida del ser vivo, los resultados reportados se analizan para llegar a un resultado estadístico que revele un rango de propiedades de compresión y comportamiento que debería tener en promedio un potencial material ante carga mecánica, para reparar defectos en CHA.

El cartílago bovino por otra parte muestra distintas resistencias a la compresión en 10 % y 20 % el aumento de las mismas indican que existe una compresión de la red de colágeno-proteoglicano y una interacción en el fluido que permite el estudio del comportamiento típico del cartílago articular. Dando como resultado la mayor lectura de resistencia a la compresión, en cuestión de la rigidez del cartílago en el surco y el medial son muy similares mostrando ligeramente mayor lectura el surco, el lateral muestra un comportamiento inferior muy posiblemente debido a su distinta estructura en comparación con ambas zonas, los resultados indican una red mejor conformada ambas zonas y la zona lateral con alguna pequeña posible alteración.

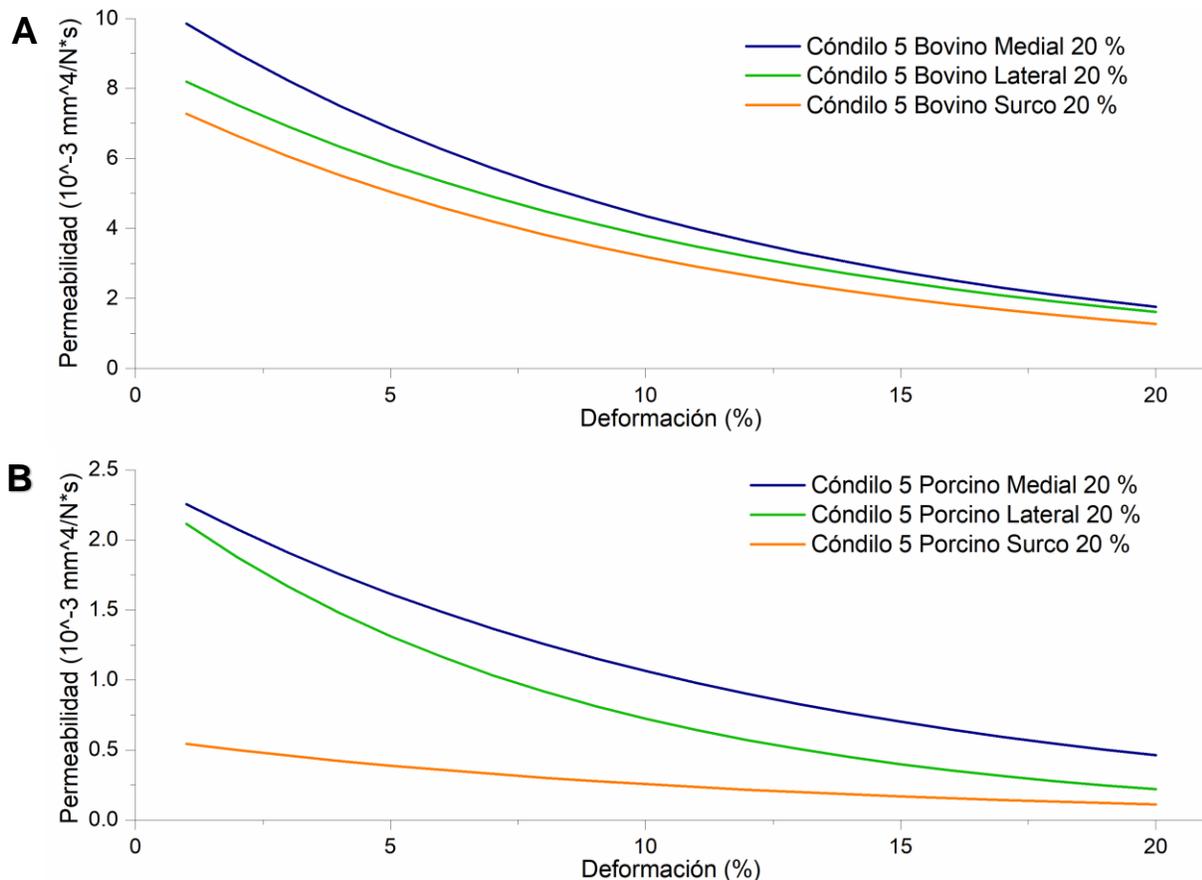


Figura 37. El cóndilo 5 bovino (A) que muestra sus interacciones por zonas en la parte superior tienen un comportamiento similar y sus valores casi igualan al 20%, el medial muestra mayor permeabilidad y menor resistencia a la compresión, en la parte inferior (B) el cóndilo porcino muestra distintos comportamientos de linealidad en cada zona, solamente el surco se comporta de manera lineal, el medial y lateral muestran mayor permeabilidad y mayores resistencias a la compresión.

El comportamiento de la permeabilidad del cóndilo 5 (ver Figura 37) es congruente con los resultados mostrados en el esfuerzo de relajación en función del tiempo, el cóndilo bovino en el surco muestra menor permeabilidad y mayor rigidez de acuerdo a los resultados, el CHA medial y lateral tienen valores más altos de permeabilidad con respecto al surco y menor resistencia a la compresión que el mismo, la causa probable es la solidez del colágeno. El cóndilo porcino en el surco presenta menor permeabilidad y menor rigidez, el medial presenta mayor permeabilidad y mayor rigidez, aunque la rigidez pueda ser ocasionada por una alteración en su matriz, el resultado de la permeabilidad indica que la alteración puede ser en zonas más profundas debido a que al momento de redistribuir el líquido interno, las tensiones internas se igualan y no relajan el esfuerzo de manera continua, indicando que en respuesta a la carga la matriz no distribuye los esfuerzos al recibir compresión ni al relajar esfuerzos de compresión.

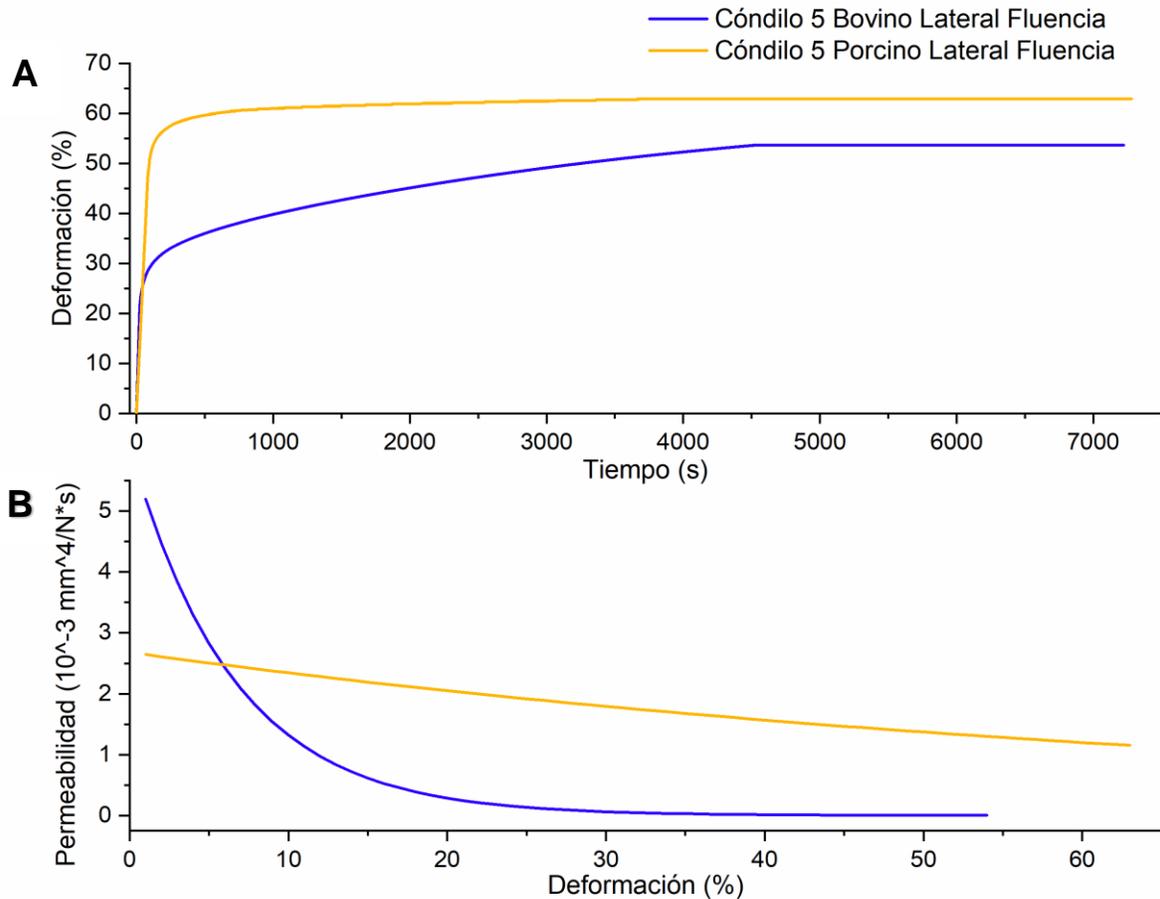


Figura 38. El comportamiento de la permeabilidad (B) en bovino respalda el resultado de mayor resistencia a la compresión (A) en comparación con la alta permeabilidad y deformación del porcino, mostrando información relevante del comportamiento en la matriz lo largo de la deformación, no solo se muestra un flujo de fluido si no una capacidad de la distinta composición bioquímica entre CHA de especies.

El comportamiento de fluencia en el cóndilo 5 (ver Figura 38) porcino resultó en una expulsión inmediata de fluido en la parte superior del espesor, muestra que primero llega a una deformación arriba del 50 % antes de resistirse a la deformación, el colágeno contenido indica menor compactación y por ende menor resistencia, siendo más blando que el bovino, está expulsión del fluido explica su bajo valor de resistencia a la compresión mostrado en el esfuerzo de relajación (ver Figura 36).

El cóndilo bovino por otro lado, tiene una permeabilidad más alta y el flujo de fluido es rápido hasta 25% de deformación, mostrando más resistencia a la deformación, registrando un comportamiento distinto de disipación de la carga a velocidades diferentes de expulsión de líquido, causa de una interacción entre colágeno y proteoglicano que expresan las curvas de deformación en función del tiempo.

La composición es distinta como se menciona anteriormente, pero es la misma zona, es posible que la diferencia de los pesos del animal sea un factor en la comparación de las propiedades mecánicas, como ejemplo, debido a que existe más de 1 factor que explique la razón de diferencias de las propiedades mecánicas de compresión.

La función principal de matriz sólida del CHA es retrasar la pérdida de presurización del líquido intersticial al retardar el flujo de fluido; este mecanismo está regulado por la permeabilidad del tejido, que es típicamente muy bajo en cartílago sano. Bajo una prueba de compresión confinada de CHA, el líquido intersticial inmediatamente presuriza al cargar y constituye más del 95% del soporte de carga, es decir, la disipa casi por completo.

Para CHA sano las propiedades mecánicas y su permeabilidad, el alto porcentaje de soporte de carga de fluido puede durar más de 500 s en una prueba de compresión confinada y probablemente mucho más tiempo *in vivo*, los resultados muestran el soporte de carga diferido para el porcino y bovino, a distintos tiempos los resultados revelan y dan información que describe la interacción en la estructura y su función en el CHA.

En la teoría lineal bifásica del cartílago, la matriz sólida se supone que es isótropa y linealmente elástico, y la fricción de arrastre de líquido que actúa sobre la fase sólida, está dado por la red de proteoglicano-colágeno²¹. Iniciar las pruebas de fluencia y relajación del esfuerzo a una carga de tara muy alta, puede contribuir a la lectura de valores de H_a y k_0 distintos, es importante tener cuidado en la medición, para obtener resultados reproducibles y confiables⁹³.

Además de preservar el cartílago no más de 2 meses y descongelarlo lo menos posible, realizar las mediciones sin tratamientos por paraformaldehído (fijación), descélularización, etanol (deshidratación) o incrustación (PMMA) antes de la medición, éstos pretratamientos cambian las propiedades mecánicas de las muestras²⁹ se recomienda obtener solo el cartílago, medirlo sin hueso y en una cámara a medida de la probeta, y el pistón permeable o con libertad de flujo para una confiable medición.

Es importante no solo caracterizar mediante normalización si no proponer estrategias que complementen la normalización de procedimientos de ensayos mecánicos en tejidos como el CHA⁵¹. Se ha planteado la hipótesis en estudios reportados de que la fibra de colágeno y su alineación y orientación son fundamentales para el funcionamiento mecánico del cartílago articular⁹⁴. Por lo cual es importante investigar las propiedades mecánicas del CHA de la mano con ensayos que cuantifiquen los principales componentes del tejido por zonas, para poder llegar a un rango conocido que asimile las condiciones del tejido humano y así proponer materiales para reparar defectos.

4.3.6.- Cóndilo 6 Porcino-Bovino; esfuerzo de relajación

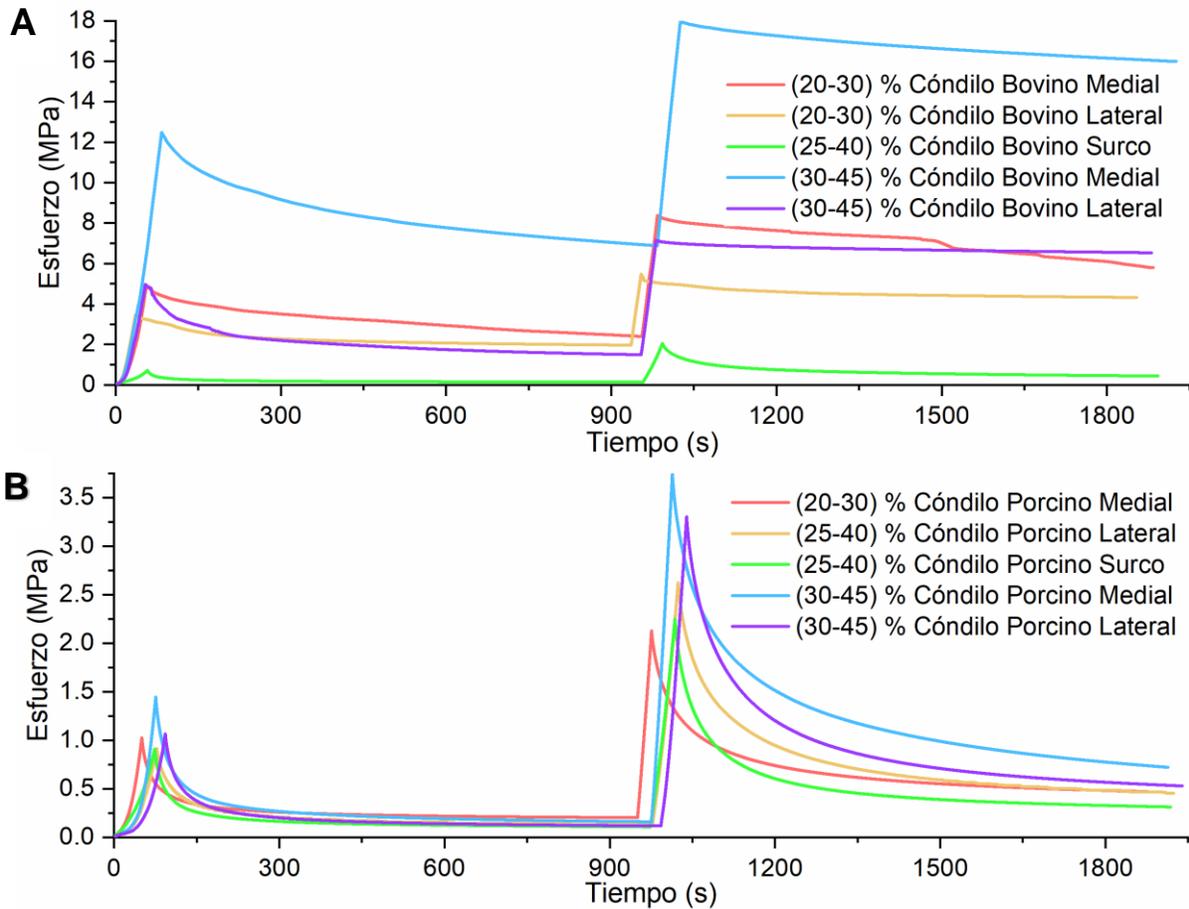


Figura 39. Se muestra en la figura distintas deformaciones para estudiar el rango mayor a 20 % en respuesta de CHA bovino (A) y porcino (B) en sus distintas zonas de carga medial, lateral y surco, mostrando distintos comportamientos de resistencia a la compresión, relajación del esfuerzo y rigidez en la matriz del CHA.

El CHA en base a los resultados de la Figura 39 se comporta como un distribuidor de esfuerzos y de la misma manera los relaja, en la comparación de inducir deformaciones arriba del 20 %, se muestra presurización muy distinta de agua y deformación de matriz sólida para el CHA bovino y porcino y sus zonas anatómicas.

El CHA bovino muestra un comportamiento anormal, indicando que la presurización de fluido es inmediata, en este caso la carga hace responsable a la matriz sólida de soportar la compresión, de manera que al relajar no hay agua que se redistribuya dentro de la matriz compactada para relajar los esfuerzos inducidos, se observa una rigidez muy alta en las zonas de carga (medial y lateral) y en el surco que es de carga baja se muestra una baja resistencia a la compresión, pues la estrecha asociación entre proteoglicanos, las fibrillas de colágeno entretrejidas y el líquido intersticial proporciona la resiliencia compresiva al cartílago a través de fuerzas negativas de repulsión electrostática, la resistencia aumenta con la profundidad desde la superficie, el contenido de líquido y la permeabilidad disminuyen con la profundidad del tejido⁶¹.

Los resultados indican que existe una asociación débil en ésta matriz, en comparación con las zonas de carga el líquido intersticial no participa para disipar la carga, pues el comportamiento es muy distinto a comprimir la matriz sólida interactuando con el líquido, que comprimir solo matriz sólida, es un comportamiento atípico el comprimir solo matriz sólida pues no es un mecanismo de compresión de matriz de CHA común.

La edad es un factor que aumenta la prevalencia de la degeneración del cartílago, la rigidez de la red de colágeno aumenta con la edad y éste endurecimiento puede deteriorar la capacidad de la red de colágeno para resistir cargas mecánicas, haciendo que el tejido sea más frágil, esto aumentaría la susceptibilidad del cartílago al daño mecánico y a la posterior degeneración⁵³.

Los principales componentes de CHA (colágeno y proteoglicanos) cambian la respuesta durante la carga de compresión por la degradación de algún componente de la matriz, disminución tanto de colágeno como de proteoglicanos inducen decremento o aumento significativamente alto de las propiedades mecánicas. Esto indica que la interacción entre componentes del CHA son clave en la disminución de capacidad de carga y la característica del entorno mecánico alterado posiblemente por edad o hábitos⁹⁵, los cuales se desconocen del CHA medido en éste estudio.

El cartílago articular porcino muestra una interacción normal de relajación del esfuerzo por el CHA en sus componentes principales, respuesta dependiente del tiempo del cartílago se origina exitosamente con la interacción fluido-sólido y la respuesta de colágeno y proteoglicanos son notorios en su resistencia a la carga de compresión y relajación de esfuerzo, en donde redistribuye líquido dentro de la matriz deformada e iguala las tensiones en todo el CHA. Se observa un aumento de resistencia y rigidez a la compresión en el cóndilo medial y lateral al inducir deformaciones más profundas en el espesor de las probetas, comprobando que a medida que aumenta la deformación mecánica la concentración del proteoglicano-colágeno y la repulsión aumenta, ya que el fluido es forzado a ser expulsado de la matriz y el volumen del CHA disminuye⁴⁷.

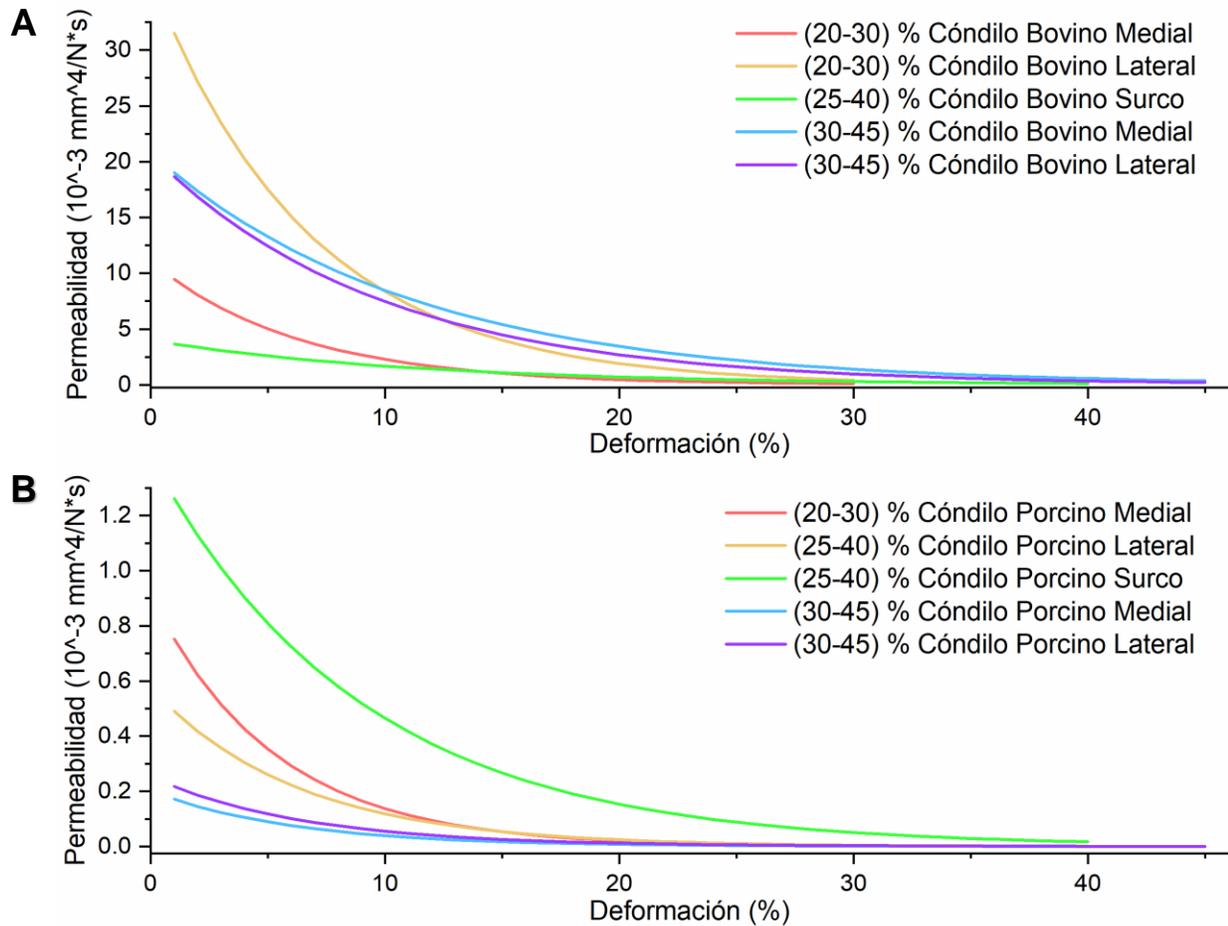


Figura 40. Se muestra en la figura distintas permeabilidades en respuesta de compresión de CHA bovino y porcino en sus distintas zonas de carga medial, lateral y surco, en la parte superior se observa el comportamiento del cóndilo bovino (A) con permeabilidades muy altas y su disminución en base a un comportamiento lineal en deformaciones arriba del 30 %, de la misma manera el cóndilo porcino mostrado en la parte inferior (B) pero a permeabilidades más bajas, llegan a resistencias de flujo de fluido a partir de 15 % con comportamientos lineales y normales de CHA en las gráficas de esfuerzo de relajación.

La permeabilidad en la Figura 40 indica que del cóndilo bovino muestra altas permeabilidades en la zona lateral y medial, el cambio de la permeabilidad conforme la deformación disminuye drásticamente, dando como resultado la expulsión del fluido súbitamente, lo que explicaría que al mantener la deformación, las altas permeabilidades y su velocidad cambiante son la causa de no relajar esfuerzos y por ende no redistribuye las tensiones inducidas en la matriz, la respuesta de las deformaciones mantenidas confirman la expulsión del agua, la cual disminuye conforme se alcanzan mayores deformaciones, pues entre más agua expulsa la matriz menos agua queda contenida.

Un ejemplo se observa en la primer deformación del cartílago bovino medial (30-45) % (Figura 39 (A)) al deformar al 30 % la matriz muestra una curva de relajación no lineal, recuperando aproximadamente 4.5 MPa de esfuerzo, al deformar al 45 % muestra una curva casi lineal recuperando solo cerca de 2 MPa, le cuesta llegar a un equilibrio.

La permeabilidad del cóndilo porcino mantiene un rango estrecho de valores, las zonas ensayadas por compresión de alta y moderada carga, muestran resistencia a la permeabilidad y al cambio de la misma a partir de 15 % de deformación en todos sus ensayos, confirmado con sus lecturas de esfuerzos de resistencia a la compresión en valores en un rango aceptable.

Las curvas de compresión iniciales concuerdan con los cambio de permeabilidad, pues en la teoría se considera que el flujo del fluido muestra un comportamiento inicial no lineal, y profundizar en el cartílago se encuentran comportamientos elásticos, mostrados por sus segundas deformaciones las cuales todas fueron lineales, mostrando mayor resistencia a la compresión proporcional a la profundidad, el cartílago del surco muestra menor resistencia a la compresión, al no estar en compresión no presenta resistencia a deformaciones alcanzadas día a día (15-20) %¹⁰, como normalmente experimentan las zonas medial y lateral, se observa un comportamiento constante tanto en resistencia a cargas de compresión y de permeabilidad al 15 % de deformación, en el surco el cambio no se logra hasta deformaciones mayores al 25 %.

Las propiedades mecánicas del CHA desarrollan su capacidad dependiendo las cargas que experimentan en las etapas de crecimiento, el surco está en contacto con la rótula, por lo tanto sufre mayoritariamente fricción y no compresión, futuras investigaciones en distintas cargas mecánicas (tracción y cizallamiento) brindarían mayor información sobre la estructura del surco.

Para caracterizar los parámetros de compresión confinada para el CHA, en base a la norma ASTM F2451-05 refiere a la teoría de Van C. Mow en 1980^{18, 86}, se ha discutido que la principal limitación de la teoría es que utiliza una descripción isotrópica para la matriz sólida del cartílago, cuando el cartílago es anisotrópico.

Por otro lado, las ventajas son que en compresión confinada, los modelos anisotrópico e isotrópico predicen el mismo comportamiento del material, la diferencia puede ser la magnitud de los parámetros del material en diferentes orientaciones, la compresión confinada es el primer paso para medir la anisotropía del CHA.

Los experimentos de fluencia y relajación de tensión se utilizan para medir la permeabilidad indirectamente y el valor de la constante M, que explica cambios relativamente grandes de los parámetros, en los ajustes de curvas de los experimentos de fluencia y esfuerzo de relajación⁶³.

4.4.- Esfuerzo cortante

El resultado de la respuesta del CHA a esfuerzo cortante, no produce ningún cambio volumétrico del tejido, por lo tanto tampoco se llevó a cabo flujo de fluido intersticial. Debido a ser un mecanismo independiente del flujo, se estudió el esfuerzo de corte mediante las deformaciones de las macromoléculas sólidas de colágeno y proteoglicanos⁶⁶. De esta manera, ante la carga, la respuesta del CHA fue rígida y dependiente de la interacción entre el colágeno y proteoglicanos. Los resultados obtenidos del cálculo del esfuerzo de corte (τ) en base a la fuerza necesaria para cortar la muestra (N), se resumen en las Tablas 14 y 15.

Tabla 14. Resultado del ensayo de esfuerzo de corte estático en 3 cóndilos porcinos, se midieron 3 zonas de CHA de cada cóndilo, fuerza necesaria para cortar la muestra (N), deformación hasta su ruptura (ϵ) y el esfuerzo cortante en función del espesor (τ) y el promedio con su desviación estándar.

Cóndilo Porcino		Fuerza de corte (N)	Deformación (ϵ)	T (MPa)
1	Cóndilo medial	222.43	42 %	6.64
	Cóndilo lateral	195.73	45 %	4.21
	Surco	297.77	48 %	5.15
2	Cóndilo medial	311.03	44 %	8.67
	Cóndilo lateral	255.89	42 %	7.92
	Surco	118.01	47 %	4.47
3	Cóndilo medial	238.39	53 %	5.81
	Cóndilo lateral	401.8	47 %	11.52
	Surco	459.59	41 %	10.01
Promedio	Cóndilo medial	257.28±38.55	46±0.04 %	7.04±1.20
Promedio	Cóndilo lateral	284.47±86.52	44±0.02 %	7.88±2.98
Promedio	Surco	291.79±139.51	45±0.03 %	6.54±2.46

Se observa en la especie porcina una similitud de resistencia a la deformación en un rango de (44-46) %, indicando una matriz sólida con resistencias similares al corte, estas deformaciones se corroboran con sus valores de esfuerzo entre (6.54-7.88) MPa, la interacción entre los componentes sólidos de la matriz del CHA porcino estadísticamente muestran una buena consolidación entre ellas, desarrollada por sus interacciones mecánicas (compresión, tensión y cizallamiento)⁶⁷. Al analizar los valores de resistencia al corte del CHA bovino (ver Tabla 15) muestra valores mayores que el porcino, la zona del surco registra deformaciones mayores a la medial y lateral, confirmando hallazgos de heterogeneidad de hasta 82 % en el surco del cóndilo 3 en ensayos de esfuerzo cortante⁷¹.

Tabla 15. Resultado del ensayo de esfuerzo de corte estático en 3 cóndilos bovinos, se midieron 3 zonas de CHA de cada cóndilo, fuerza necesaria para cortar la muestra (N), deformación hasta su ruptura (ϵ) y el esfuerzo cortante en función del espesor (τ) y el promedio con su desviación estándar.

Cóndilo Bovino		Fuerza de corte (N)	Deformación (ϵ)	T (MPa)
1	Cóndilo medial	490.18	55 %	18.02
	Cóndilo lateral	89.71	34 %	3.29
	Surco	434.97	79 %	12.48
2	Cóndilo medial	204.54	43 %	10.43
	Cóndilo lateral	228.95	60 %	10.44
	Surco	131.74	68 %	4.28
3	Cóndilo medial	206.59	60 %	8.61
	Cóndilo lateral	221.62	59 %	10.26
	Surco	338.53	82 %	7.93
Promedio	Cóndilo medial	180.09±63.98	51±0.12 %	7.99±3.32
Promedio	Cóndilo lateral	300.43±134.17	53±0.07 %	12.35±4.07
Promedio	Surco	301.74±126.49	76±0.06 %	8.23±3.35

El cóndilo medial en bovino casi asimila sus valores de esfuerzo al corte (τ) en porcino, el número de muestras debe aumentar en investigaciones futuras para obtener rangos certeros de estas propiedades medidas, la investigación de propiedades mecánicas en esfuerzo cortante estático es muy escaso en CHA, en este estudio lo proponemos debido a que un diseño de andamio se construye en condiciones estáticas para poder predecir su desempeño en condiciones dinámicas e *in vivo*. Además de asimilar las propiedades de 2 materiales (colágeno II y proteoglicanos) para un objetivo específico, es decir, un material compuesto, los resultados podrían guiar a un rango de valores que unifiquen capacidades un material destinado a distintas zonas del cóndilo.

La especial atención que se ha dado a estos valores es verificar similitud con propiedades de cartílago humano, para dar validez a ensayos mecánicos en modelos animales que permitan investigaciones confiables, se utilizó un método bajo la norma ASTM D732 (ver anexo 7.2) que estudia el esfuerzo al corte de polímeros, se realizó el experimento en el tejido biológico considerándolo un polímero reforzado (un gel de polisacáridos reforzado con fibras de colágeno tipo II), el experimento ha mostrado resultados que se correlacionan con los pocos estudios reportados de micro esfuerzo cortante⁹⁶.

Los comportamientos se ven reflejados en las Figuras 41, 42 y 43. El objetivo de esta investigación fue establecer un método para encontrar propiedades de corte dependientes de la profundidad, las cuales se pueden analizar expresadas en una gráfica que relaciona la fuerza vs la deformación.

Dando información de valores en un rango que se podría asimilar con materiales que han sido propuestos y reportados como candidatos para su uso en reparación de defectos condrales⁹⁷, es decir, las propiedades mecánicas abren camino a considerar interacciones en materiales sólidos que ayuden a reconstruir un material similar al que fue dañado o degenerado. En ocasiones se intenta imitar un comportamiento pero en el caso del CHA es importante conocer las deformaciones dependientes e independientes del flujo. No todas las interacciones en materiales compuestos o mejor dicho reforzados tienen propiedades compresivas dependientes del fluido, de tracción y resistentes al corte en un amplio rango de posibles opciones⁹⁷. Por eso, la investigación del comportamiento mecánico y de su interacción química es necesaria para correlacionar, comprender y predecir propiedades de los materiales.

La red de colágeno tiene un desempeño ante cargas mecánicas contribuyendo rigidez al esfuerzo cortante y al almacenamiento de energía en el cartílago. La pérdida del entrecruzamiento de colágeno de la zona superficial da como resultado una desorganización general del colágeno-proteoglicano en la matriz sólida⁴⁷. En su mayor parte, el colágeno almacena energía como un material elástico, su capacidad para resistir la tensión proporciona fuerza a toda la matriz sólida en cizallamiento y la disipación de energía en las fibrillas de colágeno es mínima cuando se estira. Además, la interacción de proteoglicanos con las fibras de colágeno mantiene sus orientaciones características, proporcionando así cartílago con su resistencia y rigidez en esfuerzo cortante.

La rigidez a la tracción del cartílago se deriva principalmente de la fuerza de reticulación del colágeno en interacciones de colágeno-proteoglicano⁴⁷. Estos comportamientos son independientes del flujo, cuando el flujo de líquido intersticial se vuelve determinante, el arrastre por fricción o la resistencia difusiva del flujo, se observan efectos viscoelásticos, es decir, fluencia y relajación de tensiones.

Por lo tanto entre más interacciones se midan en distintas cargas mecánicas, más información ayuda a comprender el rendimiento mecánico del cartílago articular⁴⁷. Se analizan los resultados en la deformación directa de esta red compuesta hasta su ruptura en las Figuras 41, 42 y 43.

4.4.1.- Cóndilo 1 Porcino-Bovino; esfuerzo cortante

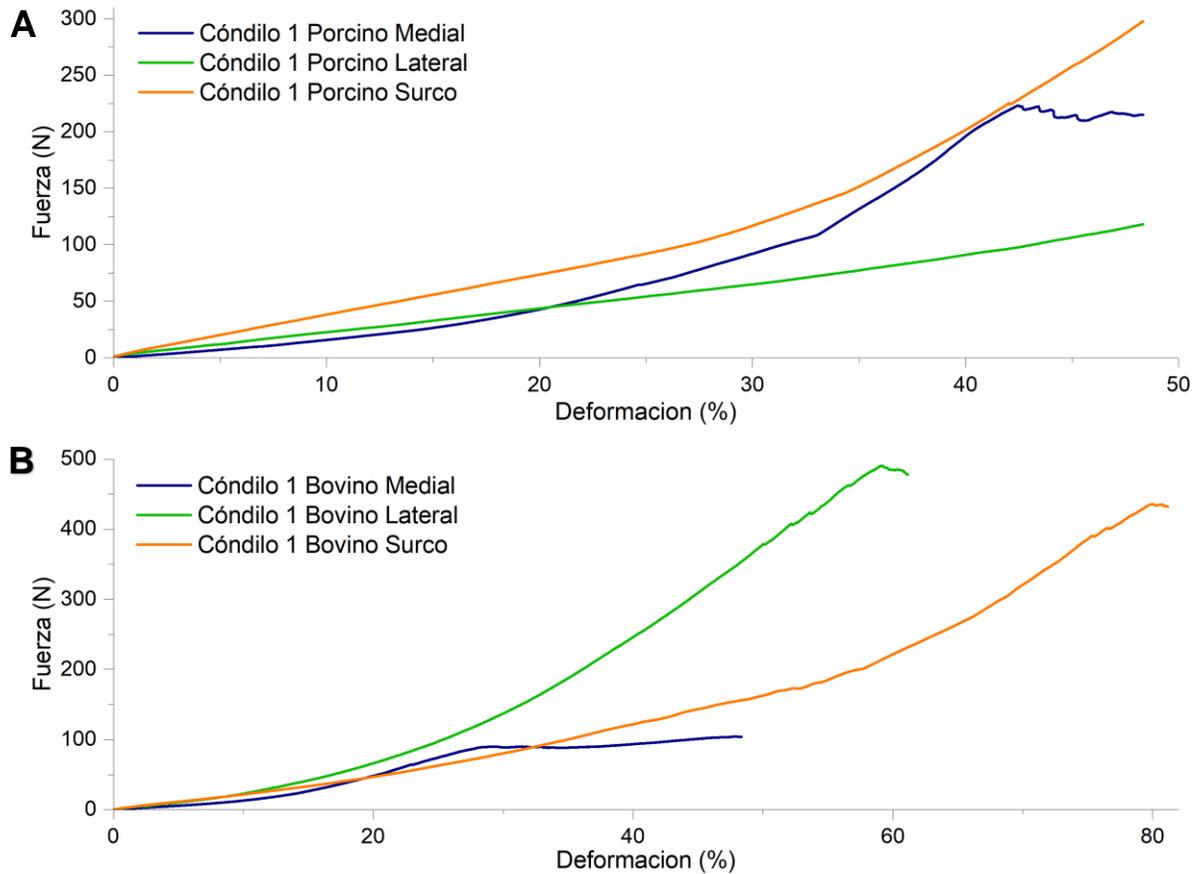


Figura 41. Esfuerzo cortante del cóndilo 1 en distintas zonas (medial, lateral y surco) de especie porcina comparada con la bovina, en la parte superior (A) se aprecian distintos comportamientos dependiendo de la deformación experimentada, indicando rigidez de la matriz sólida (colágeno tipo II y proteoglicano entrecruzado), se muestran discontinuidades de fuerza necesaria para deformar la matriz, mostrando posibles alteraciones en la zona medial porcina, de la misma manera en la parte inferior (B) se muestra el comportamiento bovino, la zona medial muestra una capacidad mínima de resistencia al corte, cuando es una zona de carga alta indicando posible deterioro de matriz sólida, en comparación con la rigidez de la zona lateral y surco, mostrando la capacidad de la matriz a estímulos mecánicos en donde no interactúa el flujo de fluido.

En la Figura 41 el comportamiento de la matriz sólida del CHA porcino en el cóndilo 1 muestra un comportamiento lineal continuo hasta deformaciones cercanas a 35 % en la zona del surco y lateral mostrando rigidez en su matriz sólida, a diferencia de la zona medial que no mostró la misma respuesta, se aprecia un pequeño decremento de la fuerza al 25 % de deformación y una curva que no es constante, ésta zona muestra altas propiedades compresivas y de la mano esfuerzos de cizallamiento normalmente.

Cuando el CHA se deteriora en la matriz sólida, empieza por la parte superior y aumenta con la profundidad, la curva del cóndilo 1 medial porcino muestra un aumento de fuerza y deformación no lineal, el cual es indicio de deterioro, respuesta mecánica debido a acumulación de material al aumentar la profundidad en el espesor y corta antes que las otras dos muestras (42 %).

El CHA bovino muestra un comportamiento similar en comparación con la zona medial, la zona lateral muestra una elasticidad mayor en su interacción de componentes sólidos y corta la muestra a menor deformación que el surco, sin embargo el surco muestra una elasticidad menor y una mayor deformación. La rigidez está relacionada con su capacidad de deformación; una deformación mayor y una rigidez moderada son óptimos en el rendimiento de un material, dependiendo de su uso las propiedades describirán un comportamiento distinto.

En la zona medial de bovino se puede observar (ver Figura 41) que carece de propiedades elásticas en su matriz sólida, debido a que el uso constante puede darle las propiedades más altas o más bajas al ser observadas en su comparación, la zona medial y lateral difieren muy poco siendo zonas que son congruentes en la articulación con la tibia. La conformación de la solidez de la red proteoglicano y colágeno es desarrollada al experimentar cargas *in vivo*, a diferencia de la zona medial, el cartílago lateral resiste carga moderadas y que pueden ser la diferencia entre las cargas excesivas que recibe el CHA medial, para conservar su comportamiento normal en el experimento.

El CHA presenta esfuerzo cortante sin cambiar de volumen, interactúa la fuerza al corte de las fibras de colágeno y la fuerza de entrecruzamiento entre proteoglicano y colágeno, describir la respuesta del módulo de corte que es lineal en el CHA requiere tener en cuenta solo la interacción sólida.

El módulo de corte del cartílago se rige por la cercanía del umbral (orientación de las fibras de colágeno) que le da rigidez, éste umbral puede variar dependiendo de la orientación del colágeno presente a lo largo del espesor del CHA y la orientación de la probeta al realizar el ensayo de esfuerzo cortante.

Además cerca de este umbral, pequeños cambios en la composición del proteoglicano o del colágeno provocan grandes cambios en la mecánica de corte, lo que podría dar lugar a diferencias entre una red óptima que soporta carga y una red escasa o degradada que ya no puede soportar ninguna carga de corte. Cambios menores en la red de proteoglicano se traducen en grandes cambios en el módulo de corte.

La complejidad del comportamiento de la rigidez requiere una gran cantidad de datos que relacionen mediciones de concentración de colágeno, concentración de glucosaminoglicanos contenidos en el proteoglicano y módulo de corte.

Comprender sus interacciones estructurales en base a la composición y las interacciones del esfuerzo al corte de la muestra, implica considerar la interacción en conjunto de los estímulos mecánicos que experimenta el CHA (cuando el cartílago se comprime y expulsa fluido se experimenta esfuerzo cortante entre el cartílago anclado al hueso subcondral, cuando se tensiona actúa en conjunto con su orientación del colágeno y el entrecruzamiento con proteoglicanos que refuerza las fibras).

Dado que estos también son los principales constituyentes de todas las matrices extracelulares en el tejido conectivo de los mamíferos, esta teoría y sus aplicaciones en los regímenes de deformación no lineal o lineal puede ser una herramienta de gran utilidad para comprender la mecánica de muchos tejidos conectivos óptimos, con alguna enfermedad y en estudios que intentan de reparar tejidos. De manera similar, este enfoque resulta útil para comprender construcciones artificiales con propiedades similares a las del tejido.

4.4.2.- C6ndilo 2 Porcino-Bovino; esfuerzo cortante

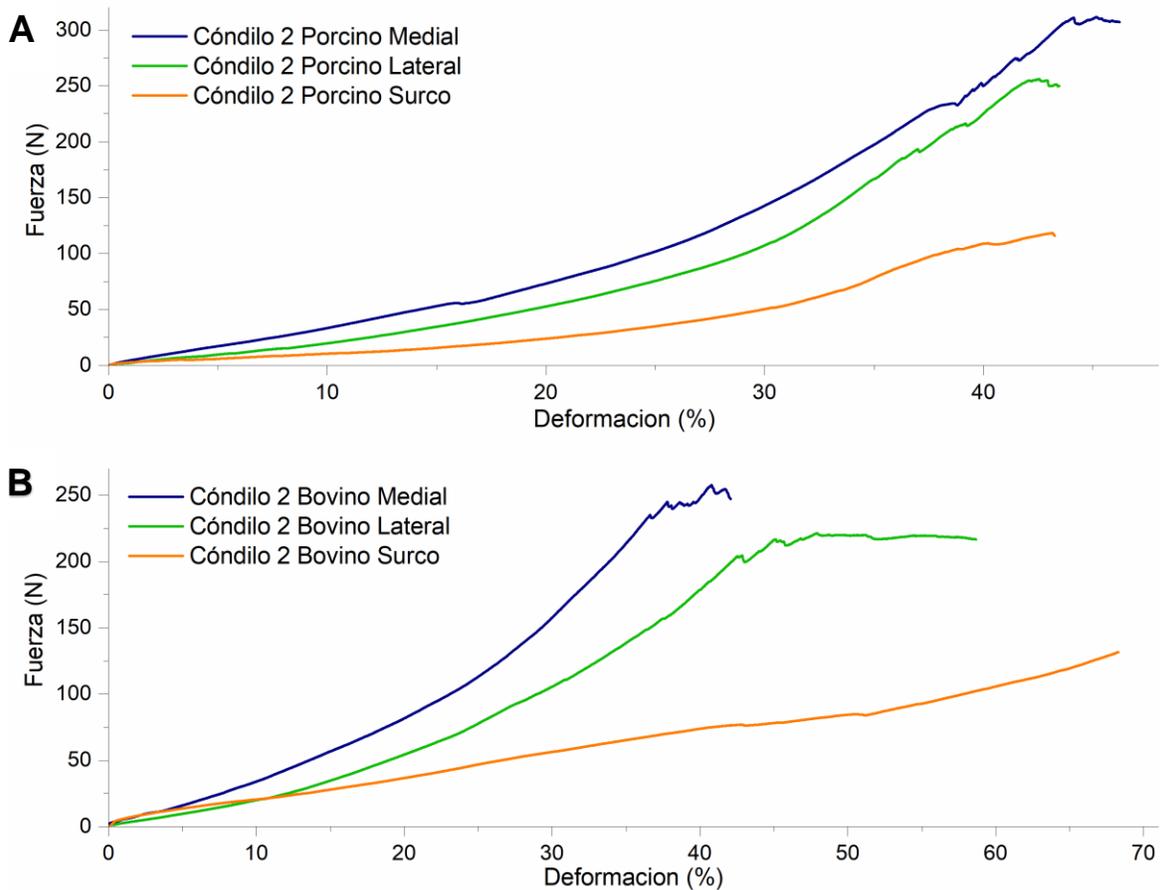


Figura 42. Esfuerzo cortante del c6ndilo 2 en la parte superior (A) muestra el comportamiento del c6ndilo porcino, el comportamiento no es lineal, sin embargo muestra resistencia a deformarse, la variaci6n indica distintas interacciones en las capas del CHA, la deformaci6n hasta la ruptura coincide en deformaciones cercanas al 43 %, en la parte inferior (B) se observa el comportamiento de las 3 zonas del c6ndilo bovino que muestran distintas capacidades de resistencia al corte, indicando que la rigidez de cada zona, la zona lateral muestra mayor rigidez y la zona del surco menor rigidez debido a que en cierta deformaci6n en la zona lateral incrementa la demanda de fuerza y en el surco se disminuye hasta su ruptura.

El c6ndilo n6mero 2 porcino y bovino en la Figura 42 demuestra un comportamiento de rigidez creciente desde zonas de surco hasta zona medial, el contacto constante puede inducir a distintas s6ntesis bioqu6micas en la matriz del CHA, desarrollando matrices con mayor rigidez, resistente a distintos a est6mulos mec6nicos y en sus distintos componentes. El est6mulo mec6nico es un posible factor principal en mejorar la interacci6n de col6geno-proteoglicano resultando un material 6nico y complejo.

Los resultados muestran menor deformación en matriz sólida rígida y comportamientos menos resistentes al corte en los surcos pero más deformables, notoriamente en el bovino más que en porcino, la morfología del cóndilo puede ser la causa de las distintas propiedades para deformar la matriz de colágeno-proteoglicano, el cóndilo del bovino es muy grande y el porcino es pequeño, con probabilidades de observar comportamientos de materiales que solo tuvieron contacto con la rótula y no sufrieron cargas que desarrollaren resistencia en esa zona del CHA. La forma de la curva describe el aumento de la fuerza en función del aumento de la deformación (ver Figura 42), ésta muestra que efectivamente el CHA es anisotrópico debido a la orientación de fibras de colágeno y su variación de composición bioquímica, el esfuerzo cortante medido se enfoca en la orientación de +Z hacia -Z (medición propuesta en el capítulo de desarrollo experimental), es decir, es un corte perpendicular a la superficie (como se muestra en la Figura 21 inciso F), lo que motiva a estudiar estos comportamientos en distintas orientaciones y su anisotropía⁹⁶.

Los diversos comportamientos mostrados son causados por sus distintas capacidades de carga, composición bioquímica y morfología de las articulaciones. La matriz extracelular del cartílago muestra variación en la concentración de colágeno en la superficie del tejido, los valores dependen de la profundidad. Al degradarse las moléculas de proteoglicano en alguna región, la reducción del módulo de corte (τ) es debido a la región degradada, cuando se observan comportamientos anormales (lecturas de fuerza baja), la diferencia en la concentración de proteoglicano entre los tejidos sanos y degradados varía sustancialmente.

Las relaciones estructura-función para la matriz extracelular que abarcan concentraciones en las redes de colágeno-proteoglicano han demostrado un comportamiento elástico continuo que representa la rigidez del compuesto molecular de glucosaminoglicanos y ácido hialurónico. Para determinar las propiedades de la red, tensamos la red, observamos su máxima fuerza de corte y su deformación, calculamos los MPa necesarios para esforzar el espesor de la muestra, es decir, el módulo de corte (τ). El espesor podría influir en esta interacción hasta la fuerza de corte, es necesario investigar la relación del espesor con sus propiedades mecánicas en esfuerzo cortante y reportar más información sobre CHA, es difícil obtener propiedades mecánicas que describan con certeza una población que represente las propiedades de un material biológico debido a su amplia variación entre muestras biológicas obtenidas.

4.4.3.- Cóndilo 3 Porcino-Bovino; esfuerzo cortante

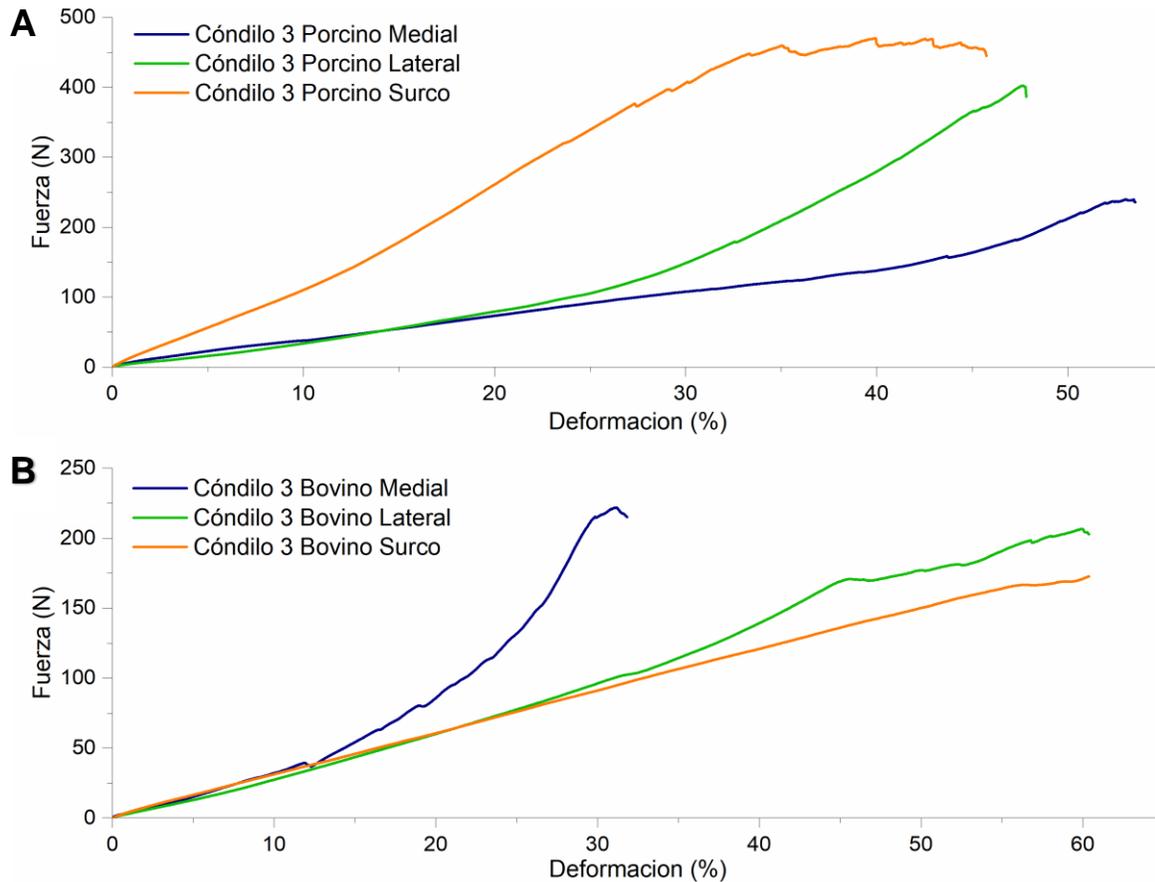


Figura 43. El esfuerzo cortante medido en el cóndilo porcino que se muestra en la parte superior (A) muestra un valor de fuerza muy alto necesaria para deformar, indicando mayor resistencia al corte en probetas de mayor espesor, la zona medial y lateral difieren de rigidez posiblemente a alguna alteración en la zona medial, a mayor uso posiblemente mayor desgaste presenta, el cóndilo bovino 3 parte inferior (B) muestra una linealidad en el surco, producto de su conformación de la matriz, además de tener capacidad de mayor deformación, su espesor es principal factor en éste comportamiento, a diferencia del medial repite un patrón de alteración en su matriz pues sus lecturas han sido bajas en cada cóndilo, cuando en compresión que es una interacción dependiente del flujo, muestra comportamientos predominantemente altos.

La grafica del cóndilo 3 en la Figura 43 muestra que el surco en el CHA porcino muestra mayor rigidez al esfuerzo cortante, relacionándolo con su espesor es la muestra de mayor espesor entre las 18 muestras medidas (ver Tabla 14 y 15), registrando uno de los mayores esfuerzos al corte, es posible una relación entre el espesor y el esfuerzo cortante de CHA.

El patrón observado en las zonas del cóndilo indica la posible alta interacción de cargas cíclicas en conjunto (compresivas, de tracción y cortantes) para la zona medial, que sufre mayor desgaste, siendo la primer zona en deteriorarse y en demandar reparación. La zona lateral porcina mostró constantes comportamientos de rigidez en todo su espesor de la matriz, capaz de deformarse y demandar mayor fuerza para lograr cambiar sus dimensiones, las curvas han mostrado una continua resistencia al esfuerzo cortante.

El comportamiento del CHA bovino en el surco repite el comportamiento rígido en base a un gran espesor, además de mostrar mayor deformación alcanzada, describe que a lo largo de su espesor su estructura y composición, que permiten el comportamiento de gran resistencia al corte. El estudio del surco puede profundizar el conocimiento del desarrollo de propiedades mecánicas que imiten CHA nativo, formando parte de una posible comparación con una zona de carga alta o moderada (medial o lateral), para analizar la interacción de distintos estímulos mecánicos en la matriz del CHA.

La zona medial a diferencia de la zona lateral bovina presenta discontinuidades al deformarse presentando posibles pequeñas alteraciones en sus componentes sólidos. La zona lateral del cóndilo 3 bovino presenta una linealidad en su deformación que presenta una rigidez en su matriz solida desarrollada por sus cargas moderadas, esto indica que un sustituto de tejido dañado, debe tener elasticidad en su comportamiento mecánico de resistencia al corte, para estímulos que puedan ser soportados tanto en zona lateral y zona medial.

El proteoglicano desempeña un papel fundamental en la mejora de las propiedades de cizallamiento del CHA en regiones de la matriz extracelular donde la concentración de colágeno es baja⁹⁶. Al medir las interacciones entre el gel de polisacáridos y la red de colágeno, la rigidez proporciona una intuición importante sobre los orígenes de este comportamiento no lineal e inusual. En la red de colágeno la contribución de proteoglicano refuerza la red para que se transmita y distribuyan esfuerzos.

Esto destaca que las capacidades aportadas por el gel de polisacáridos (proteoglicanos) pueden alterar notablemente las propiedades de esfuerzo cortante del CHA y otras propiedades como la compresión al ayudar a estabilizar la red compuesta a través de su transición en deformación.

Este acoplamiento entre las dos redes puede resultar del endurecimiento por estiramiento y compresión de la red de colágeno debido al hinchamiento inducido por las moléculas de proteoglicano⁹⁸, lo que hace que las fibras de colágeno previamente dobladas se enganchen y contribuyan mecánicamente⁹⁶. Son necesarios más estudios para conocer mejor este acoplamiento.

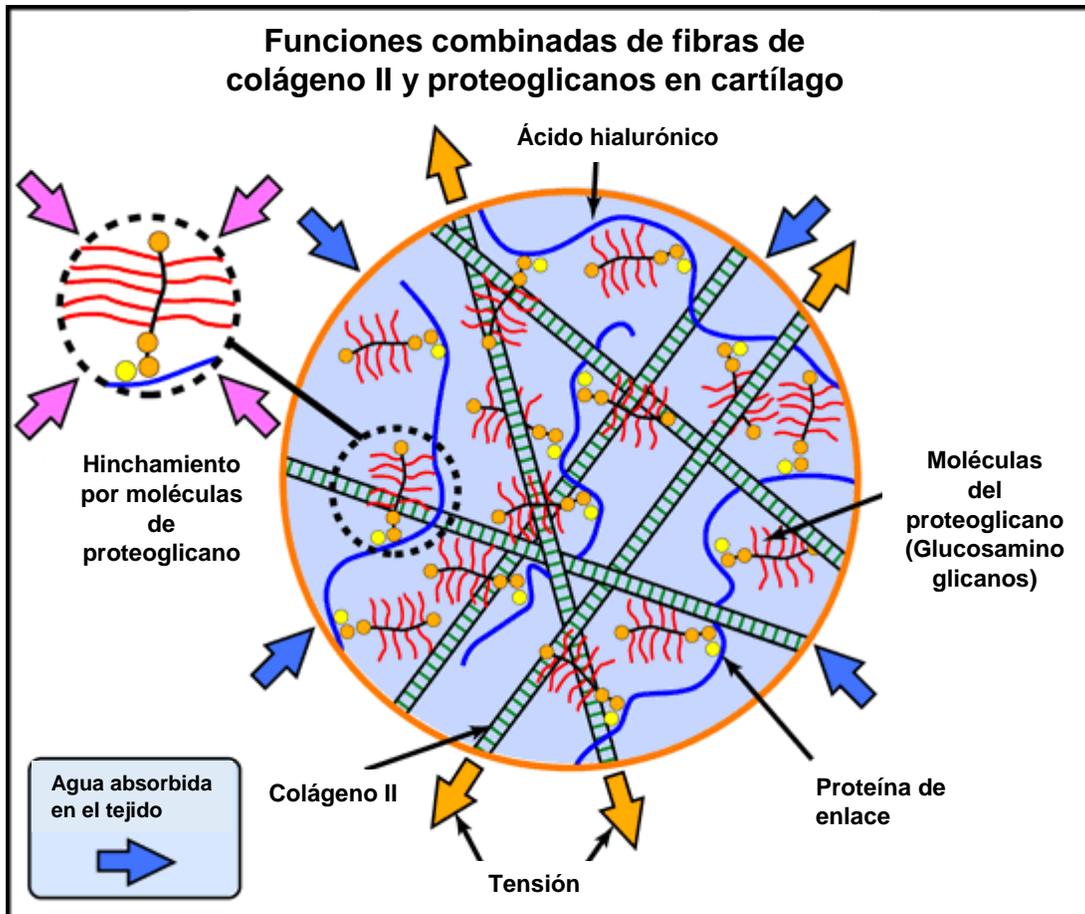


Figura 44. Red compuesta (colágeno II-proteoglicano) y sus interacciones entre el gel de polisacáridos (proteoglicanos y agua absorbida por los mismos) y la red de colágeno II (entrecruzada con moléculas de proteoglicano por fuerzas iónicas), que experimentan estímulos mecánicos de tensión, compresión y esfuerzo cortante, disipando esfuerzos gracias a los elementos en conjunto de la red compuesta⁹⁸.

Los datos obtenidos (Tablas 14 y 15) ayudan a comprender el porqué de las grandes deformaciones experimentadas por el CHA, es necesario seguir proponiendo estudios que revelen con detalle el mecanismo completo del material ante estímulos de fuerzas, para que en un futuro la ingeniería de tejidos pueda consolidar un andamio adecuado que proporcione ayuda en reparación de tejido de CHA dañado, mejorando la calidad de vida de las articulaciones sinoviales.

5.- Conclusiones

Se encontró el comportamiento experimental en ensayos de esfuerzo de relajación y fluencia para ambas especies, satisfactoriamente con la teoría bifásica de Van C. Mow para obtener valores de permeabilidad y módulo agregado altamente dependientes del fluido, estos valores resultaron similares a los reportados en la literatura. La comparación entre permeabilidad y módulo agregado de cóndilos de bovino y porcino no difiere significativamente al 20 % de deformación en ensayos de esfuerzo de relajación, sin embargo en ensayos de fluencia si existen diferencias significativas, la cuales mostraron deformaciones mayores a 20 % indicando posibles diferencias en su composición bioquímica.

Los resultados analizados son estadísticamente significativos a dar similitud a los datos reportados en bovino y porcino, que asimilan a los valores de permeabilidad y módulo agregado en humanos, dando validez de estos datos obtenidos para proponer materiales que asimilen el comportamiento de tejido nativo de CHA.

En los resultados del esfuerzo cortante los valores obtenidos mostraron similitud en la deformación al corte para bovino solo en la zona medial 51 ± 0.12 % y lateral 53 ± 0.07 % y para porcino en las zonas medial 46 ± 0.04 %, lateral 44 ± 0.02 % y surco 45 ± 0.03 %, la interacción entre los componentes sólidos de la matriz del CHA porcino y bovino al corte de la probeta mostraron solo deformaciones entre sólidos, no existió expulsión de fluido. La rigidez mostrada en las curvas indicó el grado de conformación entre colágeno tipo II y proteoglicanos en rangos de deformación característicos de sus capas. Fue posible medir las condiciones estáticas al corte con éxito resultando para bovino en la zona medial 7.99 ± 3.32 MPa, lateral 2.35 ± 4.07 MPa y surco 8.23 ± 3.35 MPa y en porcino en la zona medial 7.04 ± 1.20 MPa, lateral 7.88 ± 2.98 MPa y surco 6.54 ± 2.46 MPa.

Un diseño de andamio se construye en condiciones estáticas para poder predecir su desempeño en condiciones dinámicas e *in vivo*, los resultados pueden guiar a un rango de valores promedio de capacidades de un material viscoelástico propuesto y apto para predecir el comportamiento mecánico de distintas zonas del cóndilo.

Dichas asociaciones representan una porción de las propiedades mecánicas que se deben asimilar. La cámara confinada y la cámara de tipo punzón diseñadas ayudaron a determinar con éxito las propiedades de compresión y de esfuerzo cortante para CHA. Una examinación comprensiva de las relaciones entre propiedades mecánicas y composición bioquímica deben ser investigadas.

6.- Perspectivas

- Este trabajo sentará las bases para que, en un futuro próximo, se puedan diseñar andamios adecuados para la regeneración de cartílago hialino femoral.
- Realizar ensayos mecánicos de tensión en espesor completo de CHA y tensión con indentación en zona superficial, intermedia e inferior de bovino, porcino y humano comparando sus diferencias.
- Cuantificar glucosaminoglicanos sulfatados presentes en el CHA bovino, porcino y humano, comparar su diferencia de contenido y correlacionar con ensayos mecánicos.
- Cuantificar colágeno tipo II en bovino, porcino y humano, correlacionar con su contenido de glucosaminoglicanos y pruebas mecánicas.
Realizar con los datos obtenidos simulaciones de elemento finito para hacer predicciones de deformación a distintos estímulos mecánicos y estudiar a detalle concentración de esfuerzos en la estructura del material.
- Realizar mediciones de compresión confinada y no confinada en CHA humano para complementar la comparación de especies.
- Estudiar la morfología de probetas de tejido nativo y tejido sometido a ensayos mecánicos en cortes transversales, mediante microscopía de transmisión electrónica y microscopía electrónica de barrido, para observar sus causas y efectos de los estímulos mecánicos a los que fue sometido el material.
- Observar mediante microscopía confocal estructura de CHA bovino, porcino y humano comparando diferencias en su morfología a distintos marcadores de fluorescencia.

7. - Anexo

Norma ASTM F2451-05 (Página 1, 2, 6, 7 y 8)

Norma ASTM D732 (Página 1, 2 y 3)

7.1. - Norma ASTM F2451-05



Designation: F 2451 – 05

Standard Guide for *in vivo* Assessment of Implantable Devices Intended to Repair or Regenerate Articular Cartilage¹

This standard is issued under the fixed designation F 2451; the number immediately following the designation indicates the year of original adoption or, in the case of revision, the year of last revision. A number in parentheses indicates the year of last reapproval. A superscript epsilon (ε) indicates an editorial change since the last revision or reapproval.

1. Scope

1.1 This guide covers general guidelines for the *in vivo* assessment of implantable devices intended to repair or regenerate articular cartilage. Devices included in this guide may be composed of natural or synthetic biomaterials (biocompatible and biodegradable) or composites thereof and may contain cells or biologically active agents such as growth factors, synthetic peptides, plasmids, or cDNA.

1.2 Guidelines include a description and rationale of various animal models utilizing a range of species such as rabbit (lupine), dog (canine), pig (porcine), goat (caprine), sheep (ovine), and horse (equine). Outcome measures based on histologic, biochemical, and mechanical analyses are briefly described and referenced. The user should refer to specific test methods for additional detail.

1.3 This guide is not intended to include the testing of raw materials, preparation of biomaterials, sterilization, or packaging of product. ASTM standards for these steps are available in Reference Documents.

1.4 The values stated in SI units are to be regarded as the standard.

1.5 *This standard does not purport to address all of the safety concerns, if any, associated with its use. It is the responsibility of the user of this standard to establish appropriate safety and health practices and determine the applicability of regulatory requirements prior to use.*

2. Referenced Documents

2.1 *ASTM Standards:*²

F 561 Practice for the Retrieval and Analysis of Implanted Medical Devices, and Associated Tissues

F 565 Practice for Care and Handling of Orthopedic Implants and Instruments

F 895 Test Method for Agar Diffusion Cell Culture Screening for Cytotoxicity

F 981 Practice for Assessment of Compatibility of Biomaterials for Surgical Implants with Respect to Effect of Materials on Muscle and Bone

F 1983 Practice for Assessment of Compatibility of Absorbable/Resorbable Biomaterials for Implant Applications

F 2150 Guide for Characterization and Testing of Biomaterial Scaffolds Used in Tissue-Engineered Medical Products

2.2 *Other Documents:*

ISO-10993 Biological Evaluation of Medical Devices—Part 5: Tests for *in vitro* Cytotoxicity³

21 **CFR Part 58** Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies⁴

3. Terminology

3.1 *Definitions:*

3.1.1 *cartilage regeneration*—the formation of articular-like cartilage that has histologic, biochemical, and mechanical properties similar to that of native articular cartilage (**1, 2**).⁵

3.1.2 *cartilage repair*—the process of healing injured cartilage or its replacement through cell proliferation and synthesis of new extracellular matrix (**1, 2**).

3.1.3 *compact bone*—classification of ossified bony connective tissue characterized by the presence of osteons containing lamellar bone.

3.1.4 *femoral condyles*—the anatomic site corresponding to the distal end of the femur characterized by medial and lateral convex surfaces that are lined by cartilage and articulate with the proximal tibia and medial and lateral menisci.

3.1.5 *fibrocartilage*—disorganized cartilagenous tissue having an abnormally high content of type I collagen.

3.1.6 *growth plate*—the anatomic location within the epiphyseal region of long bones corresponding to the site of

¹ This guide is under the jurisdiction of ASTM Committee F04 on Medical and Surgical Materials and Devices and is the direct responsibility of Subcommittee F04.44 on Assessment for TEMPs.

Current edition approved April 1, 2005. Published May 2005.

² For referenced ASTM standards, visit the ASTM website, www.astm.org, or contact ASTM Customer Service at service@astm.org. For *Annual Book of ASTM Standards* volume information, refer to the standard's Document Summary page on the ASTM website.

³ Available from American National Standards Institute (ANSI), 25 W. 43rd St., 4th Floor, New York, NY 10036.

⁴ Available from U.S. Government Printing Office Superintendent of Documents, 732 N. Capitol St., NW, Mail Stop: SDE, Washington, DC 20401.

⁵ The boldface numbers in parentheses refer to the list of references at the end of this standard.

growth of bone through endochondral bone formation. The growth plate in skeletally mature animals is fused.

3.1.7 *hyaline articular cartilage*—cartilagenous connective tissue located in diarthrodial joints and characterized by its localization to articulating surfaces.

3.1.8 *marrow*—also called *myeloid tissue*; soft, gelatinous tissue that fills the cavities of the bones. It is either red or yellow, depending upon the preponderance of vascular (red) or fatty (yellow) tissue.

3.1.9 *matrix*—a term applied to either the exogenous implanted scaffold or the endogenous extracellular substance (otherwise known as extracellular matrix) derived from the host.

3.1.10 *patella*—the bone of the knee joint which articulates within the trochlear groove of the femur.

3.1.11 *residence time*—the time at which an implanted material (synthetic or natural) can no longer be detected in the host tissue.

3.1.12 *skeletal maturity*—the age at which the epiphyseal plates are fused.

3.1.13 *subchondral plate*—the margin of compact bone in direct apposition to the articular cartilage.

3.1.14 *synovial fluid*—the fluid secreted by synovium providing lubrication and nutrition to the joint surfaces.

3.1.15 *synovium*—the epithelial lining of synovial joint cavities that produce synovial fluid.

3.1.16 *tidemark*—the anatomic site in articular cartilage corresponding to the margin between cartilage and the underlying calcified cartilage.

3.1.17 *trabecular bone*—classification of ossified bony connective tissue characterized by spicules surrounded by marrow space.

3.1.18 *trochlear groove*—the anatomic site on the distal end of the femur corresponding to the region of articulation with the patella.

4. Significance and Use

4.1 This guide is aimed at providing a range of *in vivo* models to aid in preclinical research and development of tissue engineered medical products intended for the clinical repair or regeneration of articular cartilage.

4.2 This guide includes a description of the animal models, surgical considerations, and tissue processing as well as the qualitative and quantitative analysis of tissue specimens.

4.3 The user is encouraged to utilize appropriate ASTM and other guidelines to conduct cytotoxicity and biocompatibility

tests on materials or devices, or both, prior to assessment of the *in vivo* models described herein.

4.4 It is recommended that safety testing be in accordance with the provisions of the FDA Good Laboratory Practices Regulations 21 CFR 58.

4.5 Safety and Effectiveness studies to support IDE (Investigational Device Exemption), PMA (Pre-market Approval), or 510K submissions should conform to appropriate FDA guidelines for development of medical devices.

4.6 Animal model outcomes are not necessarily predictive of human results and should, therefore, be interpreted cautiously with respect to potential applicability to human conditions.

5. Animal Models

NOTE 1—This section provides a description of the options to consider in determining the appropriate animal model and cartilage defect size and location.

5.1 Joint Size and Load:

5.1.1 A high proportion of hyaline cartilage injuries in humans occur in the knee joint predominantly in the medial compartment (that is, medial femoral condyle and tibial plateau). Accordingly, the knee joint is commonly used for assessing cartilage repair/regeneration in animal models.

5.1.2 The knee is a complex diarthrodial joint involving primarily two separate articulations; femoropatellar and femorotibial. The articular surfaces of the distal femur and proximal tibia are incongruent and contain wedge shaped fibrocartilagenous menisci separating the articular surfaces. Contact between the cartilage of the femoral condyles and that of the tibial plateau occurs at the innermost central region of each medial and lateral meniscus. Mechanical load is distributed directly from the femur to the tibia as well as indirectly through the menisci. The patella articulates with the femoral condyle within the trochlear groove.

5.1.3 Significant variability exists between animal species with respect to the weight of the animal, joint anatomy, and gait thereby influencing joint kinetics, range of motion, and mechanical forces on joint surfaces. These factors influence the thickness and distribution of articular cartilage within the joints as well as macromolecular content, distribution, and collagen architecture. These factors play a significant role in the response to injury or disease of articular cartilage (see Table 1). The user should consider carefully the animal model that is appropriate for the stage of investigation of an implanted device (3).

TABLE 1 Animal Models for the Assessment of Cartilage Repair

Species	Breed Commonly Used	Age of Adult Equivalency	Weight at Adult Equivalency	Defect Sites Commonly Used	Cartilage Thickness at Femoral Condyle (mm)	Critical Size Defect (Diameter in mm)
Rabbit ^A (Lupus or Lupine)	New Zealand White	9 months	3–4 kg	FC, TG, TP, P	0.25–0.75	3
Dog ^B (Canine)	Mongrel, Beagle	>1–2 years	15–30 kg	FC, TG, P	1.3	—
Pig ^B (Porcine)	Minipig	10 months–1 year	20–40 kg	FC, TG	—	—
Goat ^B (Caprine)	Spanish, Dairy, Boer Cross	2–3 years	40–70 kg	FC, TG, TP, P	1.5–2	—
Sheep ^B (Ovine)	Suffolk or Texel	2–3 years	35–80 kg	FC, TG	1.7	7
Horse ^B (Equine)	Mixed, Thoroughbred, Quarter Horse	2–4 years	400–500 kg	FC, TG, RC	2–3	9

^A small animal.

^B large animal; FC, femoral condyle; TG, trochlear groove; TP, tibial plateau; P, Patella; RC, radial carpal.

8.4.2 All housing conditions should be USDA approved.

8.4.3 Animals should be monitored frequently and observations recorded to ascertain appropriate health and physical condition.

8.4.4 A veterinarian should approve the health condition of animals prior to returning them to larger groups or herds.

8.5 *In Life Period:*

8.5.1 The use of splints versus standard dressings can reduce joint motion and loading, however, the impact of disuse atrophy and potentially negative consequence to the cartilage should be considered when choosing length of treatment.

8.5.2 Radiographs should be used as appropriate for a given study to assess placement of the implants.

8.5.3 Following recovery, large animals should be contained within protected stalls for a minimum of nine days. After this period the animals can either remain in protected stalls or allowed to roam freely in group herds.

8.5.4 A qualified veterinarian should examine animals routinely for any gross abnormalities and for signs of discomfort.

8.6 *Necropsy:*

8.6.1 Animals should be euthanized in a humane manner according to accepted practices of the Animal Welfare Act.

8.6.2 Necropsy should be performed to determine if there are any gross abnormalities within the joint that may affect the outcome of the study. Practice F 561 should be used to obtain specimens at necropsy. In addition, to those procedures described in Practice F 561, gross evaluation should include: (1) a description of the color and quality of synovial fluid and appearance of the joint cavity lining, (2) the appearance of the native cartilage surfaces (presence or absence of fibrillation's), (3) appearance of the surrounding bone (presence or absence of osteophytes), (4) a description of the color and quality of the repair site tissue (including surface appearance and texture, and recreation of contour), and extent of integration of the implant.

8.6.3 The implanted site should be removed along with the surrounding cartilage and bone.

8.6.4 Articulating surfaces directly opposed to the implantation site may also be harvested along with a standardized amount of the surrounding cartilage and underlying bone.

8.6.5 Retrieved tissue should be placed in a solution consistent with intended outcome measures such as histology (decalcified paraffin versus nondecalcified plastic embedded), biochemistry, or mechanical testing.

8.6.6 Synovial tissue from several standard sites should also be harvested for evaluation of particle uptake and if possible, cellular recruitment to accumulated particles.

9. Evaluation and Results

9.1 *Histology*—For histologic processing procedures, refer to Practice F 561. Histological sections should be used to assess the amount and quality of tissue regeneration or repair within the defect. Histologic sections should be serially cut and stained in a manner to allow for assessment of the quality of tissue and for detection of glycosaminoglycans. Standard stains include: Weigarts, Hemotoxylin and Eosin, Safranin-O, Toluidine Blue, aniline blue or Modified Trichrome stain, or both (46-50).

9.1.1 *Microscopic Analysis and Scoring:*

9.1.1.1 Histologic sections should be analyzed for adverse tissue reactions using standard histopathologic indices.

9.1.1.2 For assessment of device performance, a scoring system such as that of O'Driscoll (10) should be utilized to determine the following:

(1) Tissue quality (hyaline versus fibrocartilage) within and surrounding the defect site,

(2) Surface appearance and extent of continuity with native cartilage,

(3) Extent of integration with native bone and cartilage,

(4) Quality of subchondral bone reconstitution,

(5) Cell morphology, and

(6) Quality of tissue surrounding fixation device.

9.1.1.3 Histomorphometric analyses can be utilized to measure histologic parameters such as thickness, integration, cell number, and surface quality.

9.1.1.4 Time points of less than six months do not necessarily reflect the long-term outcome due to the potential for changes in the biochemical composition and organization of repair tissue over time.

9.1.1.5 Short-term histologic evaluation can be used for screening and optimization while long-term assessment should be based on histologic, biochemical, and possibly mechanical measures.

9.2 *Biochemistry*—Normal hyaline articular cartilage consists primarily of Type II collagen and proteoglycans. Biochemical quantification of proteins and proteoglycans in repair tissue compared to native cartilage can provide useful information regarding the extent and quality of repair.

9.2.1 Established methods should be used to determine collagen types (10) and proteoglycan content. It is recommended that this analysis be used in conjunction with histologic assessment to compare outcome measures.

9.2.2 Generally in the absence of favorable histologic outcomes, the determination of the biochemical composition may not be warranted.

9.3 *Mechanical Testing of Repair Tissue:*

9.3.1 In the body, articular cartilage is a structural material whose successful function is highly dependent on its viscoelastic (time-dependent mechanical) properties. Current biochemical assays are by themselves inadequate for determining the mechanical performance of articular cartilage. Theory characterizing the combination solid and fluid phase properties of natural articular cartilage has been published (51, 52).

9.3.2 The aggregate modulus (H_A), the Poisson's ratio (ν), and the permeability (k) of the solid phase of the repaired or regenerated cartilage should be characterized.

9.3.3 Confined compression creep experiments should be performed to determine the permeability of the tissue, k , and the aggregate modulus, H_A , as described by Mow et al (53).

9.3.3.1 Circular plugs of cartilage are confined within a cylindrical impermeable chamber with an inner diameter matching that of the tissue. A sudden step load is applied to the tissue with a permeable loading block, and the tissue is allowed to creep until a steady state deformation is achieved.

9.3.3.2 The following assumptions are made for this testing methodology: volume fractions are uniform; the permeability, diffusive drag coefficient, and aggregate modulus, H_A , are

constant; both the solid and fluid phases are incompressible; linear elastic solid phase behavior is assumed; one dimensional deformation and infinitesimal strain theory are assumed to be valid.

9.3.4 A creep indentation test using a porous indenter can also be used to determine H_A , k , and to determine ν (52, 54).

9.3.4.1 When creep indentation tests are used, the experimental creep indentation curves should be compared to the creep indentation curves predicted by theory. Tissue engineered cartilage that behaves in the characteristic pattern of natural cartilage should match the established theoretical creep indentation curves (54).

9.3.5 Natural articular cartilage exhibits anisotropic and layered properties. Anisotropic, layered, and non-uniform properties of the repair tissue should be noted and characterized.

9.3.6 Values determined for H_A , k , and ν should be compared to previous values published for articular cartilage in various sites in humans (55-58) and animals (59, 60).

10. Analysis

10.1 *Statistical Analysis*—The mean and standard deviation should be calculated for the individual categories and the total score for each of the graded specimens. Fisher exact test, chi-square test, or Kruskal-Wallis test (a one-way non-parametric analysis of variance) can be used for analyzing the differences between the scores of different groups.

11. Keywords

11.1 animal models; biomaterials; cartilage; cartilage regeneration; cartilage repair; defect generation; devices; implants; *in vivo*; mechanical testing; synthetic biomaterials; TEMPs

REFERENCES

- (1) Bobic V., "Autologous Osteo-Chondral Grafts in the Management of Articular Cartilage Lesions," [Article in German] *Orthopade*, 1999, 28(1), pp. 19–25.
- (2) Bobic V. and Noble J. "Articular Cartilage—To Repair or Not to Repair," *J Bone Joint Surg Br*, 2000, 82(2), pp. 165–166.
- (3) Ateshian, G. A., Soslowsky, L. J., and Mow, V.C., "Quantitation of Articular Surface Topography and Cartilage Thickness in Knee Joints Using Stereophotogrammetry," *J Biomech*, 24(8), 1991, pp. 761–776.
- (4) Beaupre, G. S., Stevens, S. S., and Carter, D. R., "Mechanobiology in the Development, Maintenance, and Degeneration of Articular Cartilage," *J Rehabil Res Dev*, 2000, 37(2), pp.145–151.
- (5) Stevens, S. S., Beaupre, G. S., and Carter, D. R., "Computer Model of Endochondral Growth and Ossification in Long Bones: Biological and Mechanobiological Influences," *J Orthop Res*, 1999, 17(5), pp. 646–653.
- (6) Radin, E. L., Burr, D. B., Caterson, B., Fyhrle, D., Brown, T. D., and Boyd, R. D., "Mechanical Determinants of Osteoarthritis," *Semin Arthritis Rheum*, 1991, 21(3 Suppl 2), pp. 12–21.
- (7) Haynesworth, S. E., Goshima, J., Goldberg, V. M., and Caplan, A. L., "Characterization of Cells with Osteogenic Potential from Human Marrow," *Bone*, 13, 1992, pp. 81–88.
- (8) Salter, R., Simmonds, D., Malcom, B., Rumble, E., Macmichael, D., and Clements, N., "The Biological Effect of Continuous Passive Motion on the Healing of Full-Thickness Defects in Articular Cartilage," *Journal of Bone Joint Surgery (Am)*, 62-A, 1980, pp. 1232-1251.
- (9) Shimizu, T., Videman, T., Shimazaki, K., and Mooney, V., "Experimental Study on the Repair of Full Thickness Articular Cartilage Defects: Effects of Varying Periods of Continuous Passive Motion, Cage Activity, and Immobilization," *J Orthop Res*, 1987, 5(2), pp.187–197.
- (10) O'Driscoll, S., Salter, R., and Keeley, F., "A Method for Quantitative Analysis of Ratios of Types I and II Collagen in Small Samples of Articular Cartilage," *Analytical Biochemistry*, 145, 1985, pp. 277-285.
- (11) Amiel, D., Coutts, R., Harwood, F., Ishizue, K., and Kleiner, J., "The Chondrogenesis of Rib Perichondrial Grafts for Repair of Full Thickness Articular Cartilage Defects in a Rabbit Model: A One-Year Postoperative Assessment," *Connective Tissue Research*, 15, 1998, pp. 27-39.
- (12) Shapiro, F., "Cell Origin and Differentiation in the Repair of Full-Thickness Defects of Articular Cartilage," *Journal of Bone Joint Surgery (Am)*, 75-A, 1993, pp. 532-553.
- (13) Frenkel, S., Toolan, B., Pitman, M., and Pachence, J., "Chondrocyte Transplantation Using a Collagen Bilayer Matrix for Cartilage Repair," *Journal of Bone Joint Surgery (Am)*, 79-B, 1997, pp. 831-835.
- (14) Sellers, R., Peluso, D., and Morris, E., "The Effect of Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 (rhBMP-2) on the Healing of Full-Thickness Defects of Articular Cartilage," *Journal of Bone Joint Surgery (Am)*, 79-A, 1997, pp. 1452-1463.
- (15) Grande, D., Pitman, M., Peterson, L., Menche, D., and Klein, M., "The Repair of Experimentally Produced Defects in Rabbit Articular Cartilage by Autologous Chondrocyte Transplantation," *Journal of Orthopaedic Research*, 7, 1989, pp. 208-218.
- (16) Upton, J., Sohn, S. A., and Glowacki J., "Neocartilage Derived from Transplanted Perichondrium: What Is It?" *Plast Reconstr Surg*, 1981, 68(2), pp. 166–174.
- (17) Klompaker, J., Jansen, H., Veth, R., Nielsen, H., de Groot, J., and Pennings, A., "Porous Polymer Implants for Repair of Full-Thickness Defects of Articular Cartilage: An Experimental Study in Rabbit and Dog," *Biomaterials*, 13, 1992, pp. 625-634.
- (18) Hale, J. E., Rudert, M. J., and Brown, T. D., "Indentation Assessment of Biphasic Mechanical Property Deficits in Size-Dependent Osteochondral Defect Repair," *J Biomech*, 1993, 26(11), pp. 1319–1325.
- (19) Breinan, H., Minas, T., Hsu, H. P., Nehrer, S., Sledge, C., and Spector, M., "Effect of Cultured Autologous Chondrocytes on Repair of Chondral Defects in a Canine Model," *Journal of Bone Joint Surgery (Am)*, 79-A, 1997, pp. 1439-1451.
- (20) Hunziker, E.B., "Growth-Factor-Induced Healing of Partial-Thickness Defects in Adult Articular Cartilage," *Osteoarthritis Cartilage*, 2001, 9(1), pp. 22–32.
- (21) Chang, P. C., Pradhan, R. M., Mitra, A. K., Sim, C. S., and Tay, B. K., "The Results of Autogenous Tibial Periosteal Transplants for Full Thickness Cartilage Defects in the Knee Joints of Pigs," *Ann Acad Med Singapore*, 1999, 28(1), pp. 8–14.
- (22) Homminga, G., Bulstra, S., Bouwmeester, P., and Van Der Linden, A., "Perichondral Grafting for Cartilage Lesions of the Knee," *Journal of Bone Joint Surgery (BR)*, 1990, pp. 1003-1007.
- (23) Schreiber, R. E., Dunkelman, N. S., Naughton, G., and Ratcliffe, A., "A Method for Tissue Engineering of Cartilage by Cell Seeding on Bioresorbable Scaffolds," *Ann N Y Acad Sci*, 1999, 18, 875, pp. 398–404.
- (24) Hurtig, M. B., Novak, K., McPherson, R., McFadden, S., McGann, L. E., Muldrew, K., and Schachar, N. S., "Osteochondral Dowel

- Transplantation for Repair of Focal Defects in the Knee: An Outcome Study Using an Ovine Model," *Vet Surg*, 1998, 27(1), pp. 5–16.
- (25) Allen, M. J., Houlton, J. E., Adams, S. B., and Rushton, N., "The Surgical Anatomy of the Stifle Joint in Sheep," *Vet Surg*, 1998, 27(6), pp. 596–605.
- (26) Bruns, J., Kersten, P., Lierse, W., and Silbermann, M., "Autologous Rib Perichondrial Grafts in Experimentally Induced Osteochondral Lesions in Sheep-Knee Joint: Morphological Results," *Pathological Anatomy and Histopathology*, 1992.
- (27) van Susante, J. L., Buma, P., Schuman, L., Homminga, G. N., van den Berg, W. B., and Veth, R. P., "Resurfacing Potential of Heterologous Chondrocytes Suspended in Fibrin Glue in Large Full-Thickness Defects of Femoral Articular Cartilage: An Experimental Study in the Goat," *Biomaterials*, 1999, 20(13), pp. 1167–1175.
- (28) Butnariu-Ephrat, M., Robinson, D., Mendes, D. G., Halperin, N., and Nevo, Z., "Resurfacing of Goat Articular Cartilage by Chondrocytes Derived from Bone Marrow," *Clin Orthop Relat Res*, 1996, (330), pp. 234–243.
- (29) Shahgaldi, B. F., Amis, A. A., Heatley, F. W., McDowell, J., and Bentley, G., "Repair of Cartilage Lesions Using Biological Implants. A Comparative Histological and Biomechanical Study in Goats," *J Bone Joint Surg Br*, 1991, 73(1), pp. 57–64.
- (30) Niederauer, G. G., Slivka, M. A., Leatherbury, N. C., Korvick, D. L., Harroff, H. I., Ehler, W. C., Dunn, C. J., and Kieswetter, K., "Evaluation of Multiphase Implants for Repair of Focal Osteochondral Defects in Goats," *Biomaterials*, 21, 2000, pp. 2561–2574.
- (31) Jackson, D. W., Whelan, J., and Simon, T. M., "Cell Survival After Transplantation of Fresh Meniscal Allografts. DNA Probe Analysis in a Goat Model," *Am J Sports Med*, 1993, 21(4), pp. 540–550.
- (32) Crawford, C. J., LaBerge, M., Allen, B. L., Jr, and Powers, D. L., "Growth Profiles and Articular Cartilage Characterization in a Goat Model of Legg-Calve-Perthes Disease," *J Invest Surg*, 1995, 8(6), pp. 391–408.
- (33) Allen, J. F. and Allen, C. A., "A Mitochondrial Model for Premature Ageing of Somatically Cloned Mammals," *IUBMB Life*, 1999, 48(4), pp. 369–72.
- (34) Jackson, D. W., Halbrecht, J., Proctor, C., Van Sickle, D., and Simon, T. M., "Assessment of Donor Cell and Matrix Survival in Fresh Articular Cartilage Allografts in a Goat Model," *J Orthop Res*, 1996, 14(2), pp. 255–264.
- (35) Louwse, R. T., Heyligers, I. C., Klein-Nulend, J., Sugihara, S., van Kampen, G. P., Semeins, C. M., Goei, S. W., de Koning, M. H., Wuisman, P. I., and Burger, E. H., "Use of Recombinant Human Osteogenic Protein-1 for the Repair of Subchondral Defects in Articular Cartilage in Goats," *J Biomed Mater Res*, 2000, 15:49(4), pp. 506–516.
- (36) Convery, R., Akeson, W., and Keown, G., "The Repair of Large Osteochondral Defects: An Experimental Study in Horses," *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 82, 1972, pp. 253–262.
- (37) Hendrickson, D. A., Nixon, A. J., Grande, D. A., Todhunter, R. J., Minor, R. M., Erb, H., and Lust, G., "Chondrocyte-Fibrin Matrix Transplants for Resurfacing Extensive Articular Cartilage Defects," *J Orthop Res*, 1994, 12(4), pp. 485–497.
- (38) Sams, A. E., Minor, R. R., Wootton, J. A., Mohammed, H., and Nixon, A. J., "Local and Remote Matrix Responses to Chondrocyte-Laden Collagen Scaffold Implantation in Extensive Articular Cartilage Defects," *Osteoarthritis Cartilage*, 1995, 3(1), pp. 61–70.
- (39) Nixon, A. J., Fortier, L. A., Williams, J., and Mohammed, H. O., "Enhanced Repair of Extensive Articular Defects by Insulin-Like Growth Factor-I Laden Fibrin Composites," *Journal of Orthopaedic Research*, 17, 1999, pp. 475–487.
- (40) Fortier, L. A., Lust, G., Mohammed, H. O., and Nixon, A. J., "Insulin-like Growth Factor-I Enhances Cell-Based Articular Cartilage Repair," *Journal of Bone Joint Surgery (Br)*, 84, 2002, pp. 276–288.
- (41) Frisbie, D. D., Trotter, G. W., Powers, B. E., Rodkey, W. G., Steadman, J. R., Howard, R. D., Park, R. D., and McIlwraith, C. W., "Arthroscopic Subchondral Bone Plate Microfracture Technique Augments Healing of Large Chondral Defects in the Radial Carpal Bone and Medial Femoral Condyle of Horses," *Veterinary Surgery*, 28, 1999, pp. 242–255.
- (42) Vachon, A., McIlwraith, W., Powers, B., McFadden, P., and Ing, D., "Morphologic and Biochemical Study of Sternal Cartilage Autografts for Resurfacing Induced Osteochondral Defects in Horses," *American Journal of Veterinary Research*, 53, 1992, pp. 1038–1047.
- (43) Howard, R. D., McIlwraith, C. W., Trotter, G. W., Powers, B. E., McFadden, P. R., Harwood, F. L., and Amiel, D., "Long-Term Fate and Effects of Exercise on Sternal Cartilage Autografts Used for Repair of Large Osteochondral Defects in Horses," *Am J Vet Res*, 1994, 55(8), pp. 1158–1167.
- (44) Lane, J. G., Massie, J. B., Ball, S. T., Amiel, M. F., Chen, A. C., Bae, W. C., Sah, R. L., and Amui, D., "Follow-up of Osteochondral PLUG Transfers in a Goat Model: a 6-Month Study," *Am J Sports Med*, 32(6), 2004, pp. 1440–50.
- (45) Steadman, J.R., Rodkey, W.G., and Rodrigo, J.J. "Microfracture: surgical technique and rehabilitation to treat chondral defects" *Clin Orthop Relat Res*. 2001 Oct;(391 Suppl):S362-9.
- (46) Carson, F., *Histotechnology, A Self Instructional Text*, ASCP Press, Chicago, 1997.
- (47) Sheehan, D., and Hrapchak, B., "Bone," *Theory and Practice of Histotechnology*, McCrawHill Book Company, NY, 1960, p. 787.
- (48) Callis, G. and Sterchi, D., "Decalcification of Bone: Literature Review and Practical Study of Various Decalcifying Agents, Methods, and Their Effects on Bone Histology," *J Histotechnol*, 1998, 21, pp. 49–58.
- (49) Luna, L., *Manual of Histologic Staining Methods of Pathology*, Armed Forces Institute, 1960.
- (50) Sterchi, D., and Keefer, L., "Modified Mallory Aniline Blue Stain for Bone, Cartilage, and Other Connective Tissues," *Journal of Histotechnology*, 21, 1998, pp. 129–133.
- (51) Mow, V. C. and Lai, W. M., "Recent Development in Synovial Joint Biomechanics," *SIAM Review*, 22, 1980, p. 275.
- (52) Mak, A. F., Lai, W. M., and Mow, V. C., "Biphasic Indentation of Articular Cartilage—I. Theoretical Analysis," *J Biomech.*, 20, 1987, pp. 703–714.
- (53) Mow, V. C., Kuei, S. C., Lai, W. M., and Armstrong, C. G., "Biphasic Creep and Stress Relaxation of Articular Cartilage in Compression? Theory and Experiments," *J Biomech Eng.*, 102(1), 1980, pp. 73–84.
- (54) Mow, V. C., Gibbs, M. C., Lai, W. M., Zhu, W. B., and Athanasiou, K. A., "Biphasic Indentation of Articular Cartilage—II. A Numerical Algorithm and Experimental Study," *J Biomech.*, 22, 1989, pp. 853–861.
- (55) Athanasiou, K. A., Agarwal, A., and Dzida, F. J., "Comparative Study of the Intrinsic Mechanical Properties of the Human Acetabular and Femoral Head Cartilage," *J. Orthop. Res.*, 12, 1994, p. 340.
- (56) Alberts, L. R., Neff, J. R., Bruggeman, N. B., and Keenan, S. C., "Effects of Preservation Technique on the Viscoelastic Properties of Human Articular Cartilage," *Trans. Orthop. Res. Soc.*, 26, 2001, p. 421.
- (57) Athanasiou, K. A., Niederauer, G. G., and Schenkck, R. C. Jr., "Biomechanical Topography of Human Ankle Cartilage," *Ann Biomed Eng.*, Sep-Oct, 23(5), 1995a, pp. 697–704.
- (58) Schenkck, R. C. Jr., Athanasiou, K. A., Constantines, G., and Gomez, E. A., "Biomechanical Analysis of Articular Cartilage of the Human Elbow and a Potential Relationship to Osteochondritis Dissecans," *Clin. Orthop.*, (299), 1994, pp. 305–312.
- (59) Athanasiou, K. A., Agarwal, A., Muffoletto, A., Dzidaz, F. J., and Constantimides, G., "Biomechanical Properties of Hip Cartilage in Experimental Animal Models," *Clin. Orthop.*, Jul, (316), 1995b, pp. 254–266.
- (60) Athanasiou, K. A., Rosenwasser, M. P., Buckwalter, J. A., and Mow, V. C., "Interspecies Comparisons of In Situ Intrinsic Mechanical Properties of Knee Joint Cartilages," *J Orthop. Res.*, 9, 1991, p. 330.

7.2. - Norma ASTM D732



Designation: D 732 – 02

Standard Test Method for Shear Strength of Plastics by Punch Tool¹

This standard is issued under the fixed designation D 732; the number immediately following the designation indicates the year of original adoption or, in the case of revision, the year of last revision. A number in parentheses indicates the year of last approval. A superscript epsilon (ϵ) indicates an editorial change since the last revision or reapproval.

This standard has been approved for use by agencies of the Department of Defense.

1. Scope *

1.1 This test method covers the punch-type of shear test and is intended for use in determining the shear strength of test specimens of organic plastics in the form of sheets and molded disks in thicknesses from 1.27 to 12.7 mm (0.050 to 0.500 in.).

1.2 The values stated in SI units are to be regarded as the standard. The values given in parentheses are for information only.

1.3 *This standard does not purport to address all of the safety concerns, if any, associated with its use. It is the responsibility of the user of this standard to establish appropriate safety and health practices and determine the applicability of regulatory limitations prior to use.*

NOTE 1—There is no known ISO equivalent to this standard.

2. Referenced Documents

2.1 *ASTM Standards:*

D 618 Practice for Conditioning Plastics for Testing²

D 4000 Classification System for Specifying Plastic Materials³

D 4066 Classification System for Nylon Injection and Extrusion Materials³

E 4 Practices for Force Verification of Testing Machines⁴

E 691 Practice for Conducting an Interlaboratory Study to Determine the Precision of a Test Method⁵

3. Terminology

3.1 *Definition:*

3.1.1 *shear strength*—the maximum load required to shear the specimen in such a manner that the moving portion has completely cleared the stationary portion. It is expressed in megapascals (or pounds-force per square inch) based on the area of the sheared edge or edges.

4. Significance and Use

4.1 Shear strength obtained by a tool of the punch type is one of the recognized methods of comparing materials or obtaining data for engineering design. However, it must be recognized that for end-use application there may be many factors not taken into account in this test method, such as stress-concentrating geometries and rates of shear, which can profoundly affect shear strength. Moreover, the fact that the shear strength is calculated by dividing the load by the area of the sheared edge (circumference \times thickness) should not be interpreted as indicating that the shear strength value so obtained is solely a material property, independent of thickness.

4.2 For many materials, there may be a specification that requires the use of this test method, but with some procedural modifications that take precedence when adhering to the specification. Therefore, it is advisable to refer to that material specification before using this test method. Table 1 of Classification System D 4000 lists the ASTM materials standards that currently exist.

5. Apparatus

5.1 *Testing Machine*—Any suitable testing machine of the constant-rate-of-crosshead movement type. The testing machine shall be equipped with the necessary drive mechanism for imparting to the crosshead a uniform, controlled velocity with respect to the base. The testing machine shall also be equipped with a load-indicating mechanism capable of showing the total compressive load carried by the test specimen. This mechanism shall be essentially free from inertia-lag at the specified rate of testing and shall indicate the load with an accuracy of $\pm 1\%$ of the indicated value or better. The accuracy of the testing machine shall be verified in accordance with Practices E 4.

5.2 *Shear Tool*—A shear tool of the punch type which is so constructed that the specimen is rigidly clamped both to the stationary block and movable block so that it cannot be deflected during the test. A suitable form of shear tool is shown in Fig. 1.

¹ This test method is under the jurisdiction of ASTM Committee D20 on Plastics and is the direct responsibility of Subcommittee D20.10 on Mechanical Properties. Current edition approved April 10, 2002. Published June 2002. Originally published as D 732 – 43 T. Last previous edition D 732 – 99.

² *Annual Book of ASTM Standards*, Vol 08.01.

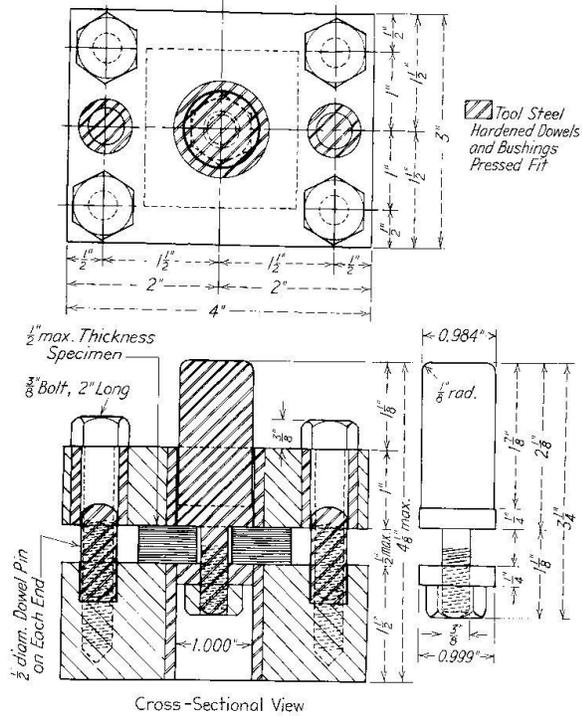
³ *Annual Book of ASTM Standards*, Vol 08.02.

⁴ *Annual Book of ASTM Standards*, Vol 03.01.

⁵ *Annual Book of ASTM Standards*, Vol 14.02.

*A Summary of Changes section appears at the end of this standard.

ASTM D 732 - 02



NOTE 1—In case of difficulty in obtaining hardened dowels and bushings, the entire shear tool may be made from a fairly good grade of steel, eliminating all of the bushings shown. The actual working surfaces will wear faster than when hardened tool steel is used. When they show signs of appreciable wear, the shear tool can then be bored out to take either hardened or unhardened bushings, depending upon which are available.

Table of Metric Equivalents

in.	1/8	1/4	3/8	1/2	0.984	0.999	1	1 1/8	1 1/2	1 7/8	2	2 1/8	3	3 1/4	4	4 1/8
mm	3.2	6.4	9.5	12.7	24.9	25.1	25.4	28	38	47	51	54	76	82	102	105

FIG. 1 Punch-Type Shear Tool for Testing Specimens 0.127 to 12.7 mm (0.050 to 0.500 in.) in Thickness

5.3 *Micrometers*—Suitable micrometers for measuring the thickness of the test specimen in an incremental discrimination of at least 0.025 mm (0.001 in.).

6. Test Specimen

6.1 The specimen shall consist of a 50-mm (2-in.) square or a 50-mm (2-in.) diameter disk cut from sheet material or molded into this form. The thickness of the specimen may be from 1.27 to 12.7 mm (0.050 to 0.500 in.). The upper and lower surfaces shall be parallel to each other and reasonably flat. A hole approximately 11 mm (7/16 in.) in diameter shall be drilled through the specimen at its center.

7. Conditioning

7.1 *Conditioning*—Condition the test specimens at $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ($73.4 \pm 3.6^\circ\text{F}$) and $50 \pm 5\%$ relative humidity for not less than 40 h prior to test in accordance with Procedure A of Practice D 618 unless otherwise specified by contract or the relevant ASTM material specification. Reference pre-test conditioning, to settle disagreements, shall apply tolerances of $\pm 1^\circ\text{C}$ (1.8°F) and $\pm 2\%$ relative humidity.

7.2 *Test Conditions*—Condition the test specimens at $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ($73.4 \pm 3.6^\circ\text{F}$) and $50 \pm 5\%$ relative humidity for not less than 40 h prior to test in accordance with Procedure A of Practice D 618 unless otherwise specified by contract or the relevant ASTM material specification. Reference pre-test conditioning, to settle disagreements, shall apply tolerances of $\pm 1^\circ\text{C}$ (1.8°F) and $\pm 2\%$ relative humidity.

8. Procedure

8.1 Use five specimens.

8.2 Measure the thickness of the test specimen with a suitable micrometer to the nearest 0.025 mm (0.001 in.) at several points 12.7 mm (0.500 in.) from its center.

8.3 Place the specimen over the 9.5-mm (3/8-in.) pin of the punch and fasten tightly to it by means of the washer and nut. Then assemble the tool jig and tighten the bolts.

8.4 Maintain the crosshead speed of the machine during the test at 1.25 mm (0.05 in.)/min, measured when the machine is running idle. The tolerances should be 1.3 ± 0.3 mm (0.050 \pm 0.010 in.)/min.

8.5 Push down the punch far enough so that the shoulder clears the specimen proper. The specimen will then be adjacent to the necked-down portion of the punch, and it should be possible to remove the specimen readily from the tool.

NOTE 2—For thick specimens of some materials the punched-out piece tends to stick in the die. If the test is continued only to the point where maximum load has been developed and starts to fall off rapidly, the specimen may be readily removed from both punch and die.

9. Calculation

9.1 Calculate shear strength in megapascals (or pounds-force per square inch), determined by dividing the load required to shear the specimen by the area of the sheared edge, which shall be taken as the product of the thickness of the specimen by the circumference of the punch.

10. Report

10.1 Report the following information:

10.1.1 Complete identification of the material tested, including type, source, manufacturer's code number, form, principal dimensions, previous history, etc.,

10.1.2 Method of test, type of test specimen, and dimensions,

10.1.3 Atmospheric conditions in the test room,

10.1.4 Conditioning procedure used,

10.1.5 Diameter of punch,

10.1.6 Load in newtons (or pounds-force) required to shear each specimen, and the average value, and

10.1.7 Shear strength in megapascals (or pounds-force per square inch) for each specimen, the average value, and the standard deviation.

11. Precision and Bias ⁶

11.1 Table 1 is based on a round-robin test conducted in

1983, in accordance with Practice E 691, involving six materials tested by eleven laboratories. Each "test result" was the average of five individual determinations. Each laboratory obtained one test result for each material.

NOTE 3—**Caution:** The following explanations of r and R (11.2-11.2.3) are intended only to present a meaningful way of considering the approximate precision of these test methods. The data given in Table 1 should not be applied rigorously to the acceptance or rejection of materials, as those data are specific to the round robin and may not be representative of other lots, conditions, materials, or laboratories. Users of this test method should apply the principles outlined in Practice E 691 to generate data specific to their laboratory and materials, or between specific laboratories. The principles of 11.2-11.2.3 would then be valid for such data.

11.2 *Concept of r and R in Table 1*—If S_r and S_R have been calculated from a large enough body of data, and for test results that were averages from testing five specimens for each test result, then:

11.2.1 *Repeatability*—Two test results obtained within one laboratory shall be judged not equivalent if they differ by more than the r value for that material. The r value is the interval representing the critical difference between two test results for the same material, obtained by the same operator using the same equipment on the same day in the same laboratory.

11.2.2 *Reproducibility*—Two test results obtained by different laboratories shall be judged not equivalent if they differ by more than the R value for that material. The R value is the interval representing the critical difference between two test results for the same material, obtained by different operators using different equipment in different laboratories.

11.2.3 The judgments in 11.2.1 and 11.2.2 will have an approximately 95 % (0.95) probability of being correct.

11.3 *Bias*—No statement may be made about the bias of this test method, as there is no standard reference material or reference test method that is applicable.

12. Keywords

12.1 punch tool; shear strength

⁶ Supporting data are available from ASTM Headquarters. Request RR: D20-1120.

TABLE 1 Shear Strength

Material ^A	Values Expressed in Units of Pound-Force per Square Inch					
	Average Thickness, in.	Mean	S_r^B	S_R^C	r^D	R^E
RIM	0.134	2 900	32	155	92	439
HDPE	0.071	3 410	27	135	76	382
Polyester	0.128	8 580	57	278	163	788
SMC	0.210	14 700	304	569	862	1 610
Polyester ^F	0.0104	10 200	384	1 950	1 080	5 530
PCTFE ^F	0.0076	7 900	528	2 730	1 490	7 740

^A The complete designations for the materials in Table 1 are: reaction injection molding (RIM), high-density polyethylene (HDPE), sheet molding compound (SMC), and polychlorotrifluoroethylene (PCTFE).

^B S_r is the within-laboratory standard deviation for the indicated material. It is obtained by pooling the within-laboratory standard deviations of the test results from all of the participating laboratories: $S_r = [(S_1)^2 + (S_2)^2 \dots + (S_n)^2 / n]^{1/2}$.

^C S_R is the between-laboratory reproducibility, expressed as standard deviation: $S_R = \{S_r^2 + S_L^2\}^{1/2}$ where S_L is the standard deviation of laboratory means.

^D r is the within-laboratory critical interval between two test results = $2.8 \times S_r$.

^E R is the between-laboratory critical interval between two test results = $2.8 \times S_R$.

^F Values for 0.010 in. thick polyester specimens and 0.007 in. thick PCTFE specimens are included in Table 1 to show that the repeatability and reproducibility of shear strength values were greatly inferior to corresponding data obtained on specimens of 1.780 mm (0.070 in.) minimum thickness. Therefore, the scope of this test method was revised to limit test specimen thickness to the range from 1.27 to 12.7 mm (0.050 to 0.500 in.).

8.- Referencias

1. Mow V.C., G. A. (1993). Biomechanics of Diarthrodial Joints: A Review of Twenty Years of Progress. *Journal of Biomechanical Engineering*, 460-467.
2. Leslie P. Gartner. (2017). *Textbook of Histology, 4th Edition*. Philadelphia: Elsevier.
3. Grynopas, M. D., Eyre, D. R., & Kirschner, D. A. (1980). Collagen type II differs from type I in native molecular packing. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Protein Structure*, 346-355.
4. Krishnan Y. (2018). Review: Cartilage diseases. *Matrix Biology*, 51-69.
5. V. C. Mow, W. Y. (2005). 5.- Structure and Function of Articular Cartilage and Meniscus. En H. R. Van C. Mow, *Basic Orthopaedic Biomechanics and Mechano-Biology, 3rd Edition*. Davis: Lippincott Williams & Wilkins.
6. Craig, T. A. (1980). Knee Anatomy A Brief Review. *Physical therapy*, 1556-1560.
7. Zigang Ge, C. L. (2012). Funtional biomaterials for cartilage regeneration. *Society for Biomaterials*.
8. Yuyao Wu, X. L. (2022). Research progress on mechanical properties and wear resistance of cartilage repair hydrogel. *Materials & design*, 1-11.
9. J. Fritz, P. J. (2008). Articular cartilage defects in the knee basics, therapies and results. *Injury, vol. 39. no 1*, 50-57.
10. K. A. Athanasiou, E. M. (2009). Articular cartilage tissue engineering . *Synthesis lectures on tissue engineering*.
11. A.R. Armiento, M. S. (2017). Biomaterials for articular cartilage tissue engineering: Learning from. *Acta Biomaterialia*, 1-20.
12. Yang Xia, K. I. (2017). Biophysics and Biochemistry of Cartilage by NMR and MRI. Cambridge: The Royal Society of Chemistry.
13. Aiyong Cui, H. L. (2020). Global, regional prevalence, incidence and risk factors of knee osteoarthritis in population-based studies. *EClinicalMedicine*, 1-13.

14. June E. Jeon, Jos M. (2009). 13. - Engineering Cartilage Tissue with Zonal Properties. *3D Tissue Engineering*. Boston: Francois Berthiaume.
15. Gerard J. Tortora, B. D. (2006). *Principles of anatomy and physiology, 13th Edition*. Madrid: Médica panamericana, S.A. de C.V.
16. Hamann N., F. Z.-P. (2012). Effect of different running modes on the morphological, biochemical, and mechanical properties of articular cartilage. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 179-188.
17. Joseph A. Buckwalter, J. A. (2006). Osteoarthritis. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 150-167.
18. Mow V. C., K. S. (1980). Biphasic creep and stress relaxation of articular cartilage in compression: Theory and experiments. *Journal Biomechanical Engineering*, 73-84.
19. K.M. Fischenich, J. W. (2020). Human articular cartilage is orthotropic where microstructure, micromechanics, and chemistry vary with depth and split-line orientation. *Osteoarthritis and Cartilage*, 1362-1372.
20. Diego Fabricio Rodríguez Camacho, J. F. (2018). Biomechanics of articular cartilage and its responses to the application of forces. *Medicas UIS vol.31 no.3 Bucaramanga*, 47-56.
21. Xin L. Lu, V. C. (2008). Biomechanics of Articular Cartilage and Determination of Material Properties. *Medicine & science in sports & exercise*, 193-199.
22. Gregorio Marchiori, M. B. (2019). Cartilage mechanical test: Evolution of current standards for cartilage repair and tissue engineering. A literature review. *Clinical Biomechanics (Bristol, Avon)*, 58-72.
23. FDA. (December de 2011). Guidance for Industry. *Preparation of IDEs and INDs for Products Intended to Repair or Replace Knee Cartilage*. Rockville, United States.
24. Olga Urbanek, D. K. (2018). Articular cartilage: New directions and barriers of scaffolds development – review. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 1-16.
25. Gema Jimenez, S. V.-R.-M. (2019). A soft 3D polyacrilate hidrogel recapitulates the cartilage niche and allows growth-factor free tissue engineering of human articular cartilage. *Acta Biomaterialia*, 146-156.
26. Liwei Fu, Z. Y. (2020). Advances and prospects in biomimetic multilayered scaffolds for articular cartilage regeneration. *Regenerative Biomaterials*, 527-542.

27. Aman Dhawan, P. M. (2019). Three-dimensional Bioprinting for Bone and Cartilage Restoration in Orthopaedic Surgery. *Orthopedic Advances, Vol 27*, 215-226.
28. Wylde, V. c. (2018). Chronic pain after total knee arthroplasty. *Efort open reviews*, 461-471.
29. J. Antons, M. G. (2017). Zone-dependent mechanical properties of human articular cartilage obtained by indentation measurements. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 29-57.
30. D. Puppi, F. C. (2009). Polymeric materials for bone and cartilage repair. *Progress in Polymer Science*, 403-440.
31. Masahiro Iwamoto, Y. O.-I. (2013). Toward regeneration of articular cartilage. *Birth Defects Research (Part C)*, 192-202.
32. Franklin T. Moutos, F. G. (2010). Functional Properties of Cell-Seeded Three-Dimensionally Woven Poly(e-Caprolactone) Scaffolds for Cartilage Tissue Engineering. *Tissue Engineering*, 1291-1301.
33. Alexa W. Hudnut, N. A. (2018). Biomechanical Analysis of Porcine Cartilage Elasticity. *Annals of Biomedical Engineering*, 1-12.
34. Alice J. Sophia Fox, A. B. (2009). The Basic Science of Articular Cartilage: Structure, Composition, and Function. *Sports Health*, 461-468.
35. J. L. Cook, C. T. (2014). Instructional Review: Knee Animal models of cartilage repair. *Bone & Joint Research*, 89-94.
36. A. Maroudas, P. B. (1968). The permeability of articular cartilage. *The journal of bone and joint surgery*, 166-177.
37. Joana Machado, N. V. (2017). Experimental characterization of the mechanical properties of knee articular cartilages in compression: first approach with swine tissues. *Rheumatology and Orthopedic Medicine*, 1-4.
38. Siobhan A. O'Leary, J. M. (2017). Characterization of facet joint cartilage properties in the human and interspecies comparisons. *Acta Biomaterialia*, 1-11.
39. Mow, G. A. (2005). 10.- Friction, Lubrication, and Wear of Articular Cartilage and Diarthrodial Joints. En V. C. Mow, & R. Huiskes, *Basic Orthopaedic Biomechanics and MechanoBiology, 3rd Edition*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
40. Oatis, C. A. (2016). *Kinesiology : the mechanics and pathomechanics of human movement. Third edition*. Philadelphia: Wolters Kluwer.

41. Eskelinen, A. (2022). Biomechanics and inflammation – Regulators of articular cartilage degradation: Models aiming towards comprehensive prediction of post-traumatic osteoarthritis progression. *Biomechanics and inflammation – regulators of articular cartilage degradation: models aiming towards comprehensive prediction of post-traumatic osteoarthritis progression*. The university of eastern finland, Kuopio.
42. Margareta, N. V. (2012). *Basic biomechanics of the musculoskeletal system*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business.
43. Suh, J.-K. (1989). A Finite Element Formulation for Nonlinear Behavior of Biphasic Hydrated Soft Tissues under Finite Deformation. *A finite element formulation for nonlinear behavior of biphasic hydrated soft tissues under finite deformation*. Faculty of Rensselaer Polytechnic Institute, Troy, New York.
44. V. C. Mow, W. M. (1980). Recent Developments in Synovial Joint Biomechanics. *Society for Industrial and Applied Mathematics*, 275-317.
45. Van C. Mow, G. A. (1993). Biomechanics of Diarthrodial Joints: A Review of Twenty Years of Progress. *Journal of Biomechanical Engineering*, 460-467.
46. Catherine Yuh, M. P.-M. (2021). Transient stiffening of cartilage during joint articulation: A microindentation study. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 1-9.
47. V. C. Mow, M. H. (1984). Fluid transport and mechanical properties of articular cartilage: a review. *Engineering and Mechanics*, 377-394.
48. T.T. Guo, J. S. (2010). Numerical Simulation of Tibia-Femoral Joint Contact Mechanical Character. *IFMBE Proceedings 31*, 919–922.
49. W. C. Hayes, L. F. (1971). Viscoelastic properties of human articular cartilage. *Journal of applied physiology*, 562-568.
50. Jonathan T. Kaplan, C. P. (2018). Cyclic loading of human articular cartilage: The transition from compaction to fatigue. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 734-742.
51. J. Paul. (1976). Approaches to design: Force actions transmitted by joints in the human body. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences, Vol. 192*, 163-172.
52. Jarrett M. Link, ,. E. (2020). The tribology of cartilage: Mechanisms, experimental techniques, and relevance to translational tissue engineering. *Clinical Biomechanics*, 1-10.
53. W. Michael Lai, V. C. (1980). Drag-induced compression of articular cartilage during a permeation experiment. *Biorheology Vol.*, 111-123.

54. J. Rautiainen, M. N. (2016). Effect of collagen cross-linking on quantitative MRI parameters of articular cartilage. *Osteoarthritis and Cartilage*, 1656-1664.
55. R.K. Korhonen, M. L. (2002). Comparison of the equilibrium response of articular cartilage in unconfined compression, confined compression and indentation. *Journal of Biomechanics*, 903-909.
56. R. Fujioka, T. A. (2013). The layered structure of the articular surface. *Osteoarthritis and Cartilage*, 1092-1098.
57. Qingen Meng, S. A. (2017). The effect of collagen fibril orientation on the biphasic mechanics of articular cartilage. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 439-453.
58. Maroudas A., B. P. (1968). The permeability of articular cartilage. *Journal Bone Joint Surgery*, 166-177.
59. Nina Hamann, F. Z.-P. (2013). Growth-related structural, biochemical, and mechanical properties of the functional bone–cartilage unit. *Journal of Anatomy*, 248–259.
60. Mak, A. F. (1986). The Apparent Viscoelastic Behavior of Articular Cartilage-The Contributions From the Intrinsic Matrix Viscoelasticity and Interstitial Fluid Flows. *Journal of Biomechanical Engineering*, 123-130.
61. Jimena S. Gonzalez, V. A. (2014). Mechanical properties of polyvinylalcohol/hydroxyapatite cryogel as potential artificial cartilage. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 47-56.
62. Li-Lan G., C.-Q. Z.-D.-P. (2014). Depth and rate dependent mechanical behaviors for articular cartilage: Experiments and theoretical predictions. *Materials Science and Engineering: C*, 244-251.
63. Jay M. Patel, B. C. (2019). A Systematic Review and Guide to Mechanical Testing for Articular Cartilage Tissue Engineering. *Mary Ann Liebert*, 1-99.
64. G. A. Ateshian, W. H. (1997). Finite deformation biphasic material properties of bovine articular cartilage from confined compression experiments. *Journal of Biomechanics*, 1157-1164.
65. Kyriacos A. Athanasiou, E. M. (2009). *Articular Cartilage Tissue Engineering*. Davis: Morgan & Claypool.
66. Mow V. C., L. W. (1982). Advanced theoretical and experimental techniques in cartilage research. En V. C. Huiskes R., *Biomechanics: Principles and*

Applications (págs. 47-74). The Hague, Boston, London: Martinus Nijhoff Publishers.

67. C. G. Armstrong, V. C. (1982). Variations in the Intrinsic Mechanical Properties of Human Articular Cartilage with Age, Degeneration, and Water Content. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 88-94.
68. Ned H. C. Hwang, S. L.-Y. (2003). *Frontiers in Biomedical Engineering*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers.
69. Nadeen O. Chahine, C. C.-B. (2004). Anisotropic strain-dependent material properties of bovine articular cartilage in the transitional range from tension to compression. *Journal of Biomechanics*, 1251-1261.
70. J. S. Jurvelin, M. D. (2003). Mechanical anisotropy of the human knee articular cartilage in compression. *Journal of Engineering Medicine*, 215-219.
71. Pallab Datta, V. V. (2019). Anisotropy Properties of Tissues: A Basis for Fabrication of Biomimetic Anisotropic Scaffolds for Tissue Engineering. *Journal of Bionic Engineering*, 842–868.
72. Stephany Santos, F. M. (2017). Anisotropy and inter-condyle heterogeneity of cartilage under large-strain shear. *Journal of Biomechanics*, 74-82.
73. Morgan A. McLeod, R. E. (2013). Depth-dependent anisotropy of the micromechanical properties of the extracellular and pericellular matrices of articular cartilage evaluated via atomic force microscopy. *Journal of Biomechanics*, 586–592.
74. Salvatore Federico, W. H. (2007). Towards an analytical model of soft biological tissues. *Journal of Biomechanics*, 3309-3313.
75. Guebum Hana, M. E. (2018). Rate-dependent crack nucleation in cartilage under microindentation. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 186-192.
76. Gerard A. Ateshian, N. O. (2004). The Correspondence Between Equilibrium Biphasic and Triphasic Material Properties in Mixture Models of Articular Cartilage. *Journal of Biomechanics*, 391-400.
77. Hattie C. Cutcliffe, L. E. (2020). Comparison of Cartilage Mechanical Properties Measured During Creep and Recovery. *Scientific Reports*, 1-8.
78. Joseph A. Wahlquist, F. W. (2017). Indentation mapping revealed poroelastic, but not viscoelastic, properties spanning native zonal articular cartilage. *Acta Biomaterialia*, 41-49.

79. Franz Maier, H. D. (2016). Shear Deformations of Human Articular Cartilage: Certain Mechanical Anisotropies Apparent at Large But Not Small Shear Strains. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 1-33.
80. M. H. Holmes, W. M. (1985). Singular Perturbation Analysis of the Nonlinear, Flow-Dependent Compressive Stress Relaxation Behavior of Articular Cartilage. *Journal of Biomechanical Engineering*, 206-218.
81. Michael D. Buschmann, J. S.-A. (1998). Confined compression of articular cartilage: Linearity in ramp and sinusoidal tests and the importance of interdigitation and incomplete confinement. *Journal of Biomechanics*, 171—178.
82. W. M. Lai, V. C. (1981). Effects of Nonlinear Strain-Dependent Permeability and Rate of Compression on the Stress Behavior of Articular Cartilage. *Journal of Biomechanical Engineering*, 61-65.
83. Holmes, M. H. (1985). A theoretical analysis for determining the nonlinear hydraulic permeability of a soft tissue from a permeation experiment. *Bulletin of Mathematical Biology Vol. 47*, 669-683.
84. Maroudas, A. (1968). Physicochemical properties of cartilage in the light of ion exchange theory. *Biophysical journal volume 8*, 575-595. Edwards, J. (1966). Physical characteristics of articular cartilage. *Proc Instn Mech Engrs*, 16-24.
85. Snehal Chokhandre, A. E. (2020). A comprehensive testing protocol for macro-scale mechanical characterization of knee articular cartilage with documented experimental repeatability. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 1-12.
86. ASTM. (2010). Standard Guide for in vivo Assessment of Implantable Devices Intended to Repair or Regenerate Articular Cartilage. *ASTM F2451-05*. Philadelphia, West Conshohocken, United States.
87. Athanasiou K. A., R. M. (1991). Interspecies Comparisons of In Situ Intrinsic Mechanical Properties of Distal Femoral Cartilage. *Journal of Orthopaedic Research*, 330-340.
88. V.C. Mow, I. H. (1990). Biphasic and Quasilinear Viscoelastic. En A. R.-y. Van C. Mow, *Biomechanics of Diarthrodial Joints* (págs. 215-260). New York: Springer-Verlag.
89. ASTM. (2002). ASTM D732 – 02. *Standard Test Method for Shear Strength of Plastics by Punch Tool*. Philadelphia, West Conshohocken, United States.

90. Buschmann M.D., S. J.-a. (1998). Confined compression of articular cartilage: Linearity in ramp and sinusoidal tests and the importance of interdigitation and incomplete confinement. *Journal Biomechanical*, 171-178.
91. DiMicco, M. S. (2001). Integrative Cartilage repair: adhesive strength is correlated with collagen deposition. *Journal Orthopedics*.
92. Athens, A. M. (2013). Induced Collagen Cross-Links Enhance Cartilage Integration. *PLoS ONE*.
93. Michael A. Soltz, G. A. (1998). Experimental verification and theoretical prediction of cartilage interstitial fluid pressurization at an impermeable contact interface in confined compression. *Journal of Biomechanics*, 927-934.
94. K.M. Fischenich, J. W. (2020). Human articular cartilage is orthotropic where microstructure, micromechanics, and chemistry vary with depth and split-line orientation. *Osteoarthritis and Cartilage*, 1362-1372.
95. Maria-Ioana Pastrama, A. C. (2019). Combined enzymatic degradation of proteoglycans and collagen significantly alters intratissue strains in articular cartilage during cyclic compression. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 383-394.
96. Thomas Wyse Jackson, J. M. (2022). Structural origins of cartilage shear mechanics. *Science advances*.
97. Sánchez-Télez, D. A., Télez-Jurado, L., & Rodríguez-Lorenzo, L. M. (2017). Hydrogels for cartilage regeneration, from polysaccharides to hybrids. *Polymers*.
98. Hardingham, T. E. (1998). Cartilage; aggrecan-link protein-hyaluronan aggregates. *Glycoforum*, 2, A5.