



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**“Ingeniería de Tejidos y su aplicación en la  
reparación del cartílago articular”**

**T E S I S**  
**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**  
**B I Ó L O G A**  
**P R E S E N T A :**  
**SANDRA JULIETA GARCÍA LÓPEZ**



**FACULTAD DE CIENCIAS  
UNAM**

**DIRECTORA:**  
**M. en C. MARÍA CRISTINA VELASQUILLO  
MARTÍNEZ**

**2009**



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.

El presente trabajo fue realizado en el laboratorio de Ingeniería de Tejidos y Terapia Celular del Instituto Nacional de Rehabilitación (INR), bajo la dirección de la M. en C. María Cristina Velasquillo Martínez.

“El cumplimiento de una meta solo se logra con la perseverancia”

Julieta G. L.

“Nunca consideres el estudio como una obligación, sino como una oportunidad para penetrar en el bello y maravilloso mundo del saber.”

Albert Einstein.

“Hay una fuerza motriz más poderosa que el vapor, la electricidad y la energía atómica: la voluntad.”

Albert Einstein.

“Quien tiene paciencia, obtendrá lo que desea.”

Benjamín Franklin.

“La inteligencia consiste no sólo en el conocimiento, sino también en la destreza de aplicar los conocimientos en la práctica.”

Aristóteles.

## RECONOCIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por dejarme ser parte de ella, así también por la formación académica, ya que es un orgullo pertenecer a la máxima casa de estudios.

A la Facultad de Ciencias, en la cual recibí la formación académica para ser bióloga y a su comunidad que contribuyó en mi formación profesional, intelectual y humana.

Al Instituto Nacional de Rehabilitación por permitirme realizar mi tesis de licenciatura, utilizando sus instalaciones, además su personal siempre me brindo un buen trato.

Al laboratorio de Ingeniería de Tejidos y Terapia Celular, principalmente a la M. en C. Cristina Velasquillo, por la dirección de este trabajo, ya que siempre me brindo su apoyo, confianza y amistad, así como las instalaciones del laboratorio.

Al personal académico del laboratorio de Ingeniería de Tejidos y Terapia Celular: Biol. Valentín Martínez, Dr. David Garciadiego, M. V. Ricardo, Sria. Mónica Higuera, al Técnico Histólogo Enrique, Katia, Xochitl, M. en C. Erika Rubalcaba y en especial al Quím. Carlos Landa; por tratarme siempre como parte de la comunidad del laboratorio, brindarme sus conocimientos, consejos y amistad.

A mis sinodales por la revisión de mi trabajo, por los comentarios y sugerencias muchas gracias:

Dra. Patricia Rivas Manzano.

Dra. María Cristina Piña Barba.

Dra. Rosario Ortiz Hernández.

M. en C. Erika Karina Ruvalcaba Paredes.

## AGRADECIMIENTOS

Primero que nada agradezco a Dios por darme la vida y permitirme terminar mis estudios.

Agradezco a mis padres **Hidilberto García Guevara** y **María Teresa López Rivera**, que siempre me han brindado su amor y apoyo tanto moral como económico, por que siempre creyeron en mí sin pedirme nada a cambio. A mi mami chula, a quien quiero con toda mi alma ya que es la persona mas importante en mi vida, por que siempre me ha enseñado que no importa lo que pase, siempre hay que levantarse y ver para adelante, por sus consejos, sus desvelos, su fortaleza, su ayuda incondicional, ya que siempre me dijo que para tener algo hay que luchar y ser perseverante. A mi papiringo, a quien quiero mucho y que me dio siempre buenos consejos dejándome siempre a mi decir, gracias por tu apoyo, por ser tan trabajador, por enseñarme a que la honestidad te hace ser mejor persona y que el estudiar te hace ser mejor.

A mis hermanas con quienes he estado toda mi vida y me han ayudado a llevar esta vida con alegría: **Karina**, con quien he compartido muchos momentos felices y tristes durante toda mi vida, ya que siempre nos hemos apoyado, gracias por tu amistad, tu ayuda incondicional tanto moral como profesional y por tus consejos. **Lupita**, por escucharme y abrazarme, ya que siempre ha estado ahí apoyándome con una sonrisa y un beso. Pero lo más importante, le agradezco por que me ayudo a cuidar a mi niño en los momentos que mas lo he necesitado. **Chabelita**, por quererme, por estar conmigo siempre y cuidar a mi niño. HA USTEDES MIS HERMANAS MUCHAS GRACIAS!!!!!!!.

A Saúl Emiliano Bautista García, mi hijo quien me ha dado esa fortaleza para vencer todas las adversidades que he tenido durante este proceso de terminar la carrera, por tratar de entenderme cuando necesitaba estudiar.

A José Antonio Bautista Tapia, mi esposo que me ayudo y me hizo pasar tiempos felices, a sus papás, mis suegros Luciana Tapia y Jose Luis Bautista por apoyarme.

A mis amigos de la carrera Tanis, Marianis, Daf, Nay, Alex, Hector, Varenka, Enrique, Miguel, Pilar, Lizita, Julia, a Alejandro Lloret por que ha sido el mejor profesor que he tenido en la carrera, a la Dra. Patricia Ramos por sus consejos y a todos los que se me hayan olvidado. Muchas gracias por estar en las buenas y en las malas, en los momentos de estrés, de alegría, en los reventones, a todos ellos muchas gracias.

**“¡¡¡México, Pumas, Universidad; Gooya, Goya.....Universidad!!!”**

## INDICE

<b>RESUMEN</b> .....	1
<b>ABREVIATURAS</b> .....	3
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	5
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	7
<b>3. PROCEDIMIENTO</b> .....	7
<b>4. CARTÍLAGO</b> .....	8
4.1. Tipos de cartílago.....	8
4.2. Localización.....	9
<b>5. ARTICULACIÓN</b> .....	10
5.1. Tipos de articulación.....	10
5.2. Estructura de la rodilla.....	11
<b>6. CARTÍLAGO ARTICULAR</b> .....	13
6.1. Descripción.....	13
6.1.1. Nutrición.....	14
6.1.2. Función.....	15
6.2. Organización del cartílago articular.....	16
6.3. Tipos de matriz extracelular en el cartílago articular.....	18
6.4. Composición molecular de la matriz extracelular cartilaginosa.....	19
6.4.1. Proteoglicanos.....	20
6.4.2. Colágena.....	23
6.4.3. Agua.....	24
6.4.4. Glucoproteínas y proteínas no colágenas.....	25
6.4.5. Integrinas.....	25
6.4.6. Anexinas.....	29
6.4.7. Ácido hialurónico.....	29
6.4.8. Factores de crecimiento.....	30
<b>7. DEGENERACIÓN DEL CARTÍLAGO ARTICULAR</b> .....	32
7.1. Por que se daña el cartílago articular.....	32



7.2. Tipos de daño.....	32
<b>8. OSTEOARTRITIS.....</b>	<b>34</b>
8.1. Descripción.....	34
8.2. Factores de riesgo.....	35
8.3. Mecanismo de acción desde el punto de vista biológico.....	35
8.4. Tratamiento.....	39
<b>9. INGENIERÍA DE TEJIDOS.....</b>	<b>41</b>
9.1. Descripción.....	41
9.2. Principios básicos de la Ingeniería de Tejidos.....	41
9.3. Procedimientos y componentes de la Ingeniería de Tejidos.....	42
9.3.1. Andamios.....	43
9.3.1.1. Características y tipos de andamios.....	43
9.3.2. Células.....	53
9.3.3. Biorreactores.....	60
9.4. Ventajas y desventajas de la aplicación de la Ingeniería de Tejidos para la reparación del cartílago articular.....	64
<b>10. IMPACTO DE LA INGENIERÍA DE TEJIDOS EN LA REPARACIÓN DEL     CARTÍLAGO ARTICULAR.....</b>	<b>66</b>
<b>11. CONCLUSIÓN.....</b>	<b>67</b>
<b>12. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>69</b>

## RESUMEN

La ingeniería de tejidos es una herramienta de la medicina regenerativa, la cual desarrolla sustitutos biológicos que sirven para reemplazar tejidos dañados, sus principios básicos son obtener neot Tejido a partir de la combinación de células con o sin andamios, así como factores de crecimiento, en los cuales las células sean capaces de integrarse, proliferar y mantener su propia matriz. Para este proceso, la ingeniería de tejidos puede utilizar una gran variedad de tipos celulares obtenidas del mismo paciente (autólogas), de otro individuo (alógenas) o de otra especie (xenogénicas). También pueden usarse diferentes tipos de andamios los cuales pueden ser naturales o sintéticos y a su vez combinaciones de estos así como adicionar o no uno o varios factores de crecimiento.

Este trabajo se enfocó a un solo tipo de tejido, el cartílago articular. El cual está formado por un solo tipo celular, denominado condrocito su principal función es producir y mantener su matriz extracelular que está formada básicamente de colágena tipo II, proteoglicanos, agua, glucoproteínas y otras proteínas que le brindan sus propiedades biomecánicas propias del tejido como soportar carga, capacidad de deformación y viscoelasticidad, por lo que gracias a estas características es que se encuentra recubriendo los extremos de las articulaciones ya que impide la fricción de hueso con hueso además de permitir el movimiento.

El interés en el cartílago de la articulación de rodilla se basa, en que es un tejido de gran uso e impacto, pero su capacidad de regeneración y reparación es limitada, principalmente porque el cartílago es un tejido aneural y avascular, por lo que las lesiones pueden ocasionar la degeneración de este tejido llevándolo a la pérdida total, a la exposición del hueso subcondral y eventualmente conducir a la discapacidad. Existen diferentes factores que ayudan o contribuyen al daño articular, entre ellos están la edad, la obesidad, la mala nutrición, el impacto repetitivo, los deportes extremos como saltos con patineta, patinaje, básquetbol entre otros y las enfermedades degenerativas como la osteoartritis (OA), que afecta a muchas personas que sobrepasan los 40 años aunque también personas más jóvenes pueden presentarla; además en algunos estudios se prevé que incrementará la incidencia de esta enfermedad en los próximos años y con ello un gasto económico (Haasper, *et al.*, 2008.; Abramson y Krasnokutsky, 2006).

La ingeniería de tejidos ha contribuido en generar tejido parecido al cartílago articular tanto *in vitro* como *in vivo*, para poder reparar y sustituir el tejido dañado, aquí se muestra el análisis de algunos trabajos que se han realizado para generar cartílago articular utilizando una variedad de células, andamios, factores de crecimiento, biorreactores, entre otros; aunque se han tenido grandes avances todavía falta encontrar la combinación exacta para formar este tejido ya que finalmente degenera conforme pasa el tiempo por lo que se debe conocer más su embriogénesis y la interacción de los condrocitos con su microambiente para entender su dinámica tisular y poder inducir su reparación.

## ABREVIATURAS

OA	Osteoartritis.
Scaffolds	Andamios.
MEC	Matriz Extracelular.
GAGs	Glucosaminoglucanos.
(COOH)	Carboxilo.
(SO <sub>4</sub> )	Grupo Sulfato.
(CS)	Condroitín sulfato.
DS	Dermatán sulfato.
QS	Queratán sulfato.
HS	Heparán sulfato.
AH	Ácido hialurónico.
PG	Proteoglucanos.
COMP	Proteína oligomérica de cartílago.
TGF- $\beta$	Factor de Crecimiento transformante $\beta$ .
FGFs	Factores de Crecimiento fibroblástico.
PPGFs	Factor de Crecimiento derivado de plaquetas.
EGF	Factor de Crecimiento Epidérmico.
IGF	Factor de Crecimiento Parecido a insulina.
BMPs	Proteínas morfogenéticas de hueso.
CTGF	Factor de crecimiento de tejido conectivo.
MRI	Imagen de resonancia magnética.
IL-1b	Interleucina 1b.
TNF $\alpha$	Factor de necrosis tumoral $\alpha$ .
IL-6	Interleucina – 6.
IL-17	Interleucina – 17.
IL-18	Interleucina – 18.
IL-1	Interleucina 1.
MMPs	Metaloproteasas.
ICA	Implante de condrocitos autólogos.
MSCs	Células madre mesenquimales.

FMBs	Microgotas de fibrina
hCHs	Condrocitos humanos adultos.
PGA	Ácido poliglicólico.
PLA	Ácido poliláctico.
PLG	Poliláctico – coglicólido.
PLGA	Ácido poliláctico – coglicólido.
PTFE	Politetrafluoroetileno.
PET	Poliétileno tereftalato.
TCP	Fosfato tricálcico.
CDHA	Calcio deficiente de hidroxiapatita.
PVA-H	Hidrogel - poli vinil alcohol.
PEGT	Poliétilenglicol teraftalato.
PBT	Poli butileno teraftalato.
TP	Templado de parafina.
PCL	Poli caprolactona.
PEG	Poliétilenglicol.
OPF	Oligo polifumarato.
TGP	Polímero de gelatina termorreversible.
poliNIPAAm-co BMA	Poli Nisopropilacrilamida-co-n-butil metacrilato.
H/E	Tinción de hematoxilina y eosina.
FDA	Administración de drogas y alimentos en Estados Unidos.
PPF	Poli propileno fumarato.
BMSCs	Células madre mesenquimales derivadas de la médula ósea.
CA	Condrocitos articulares.
HARV	Vaso rotador de mayor orientación.
PLCL	Poli L-láctico-co-ε-caprolactona.
RT - PCR	Reacción en cadena de polimerasa en transcripción reversa.
ARN	Ácido Ribonucleico.

## 1. INTRODUCCION

Cada estructura de nuestro cuerpo es importante, porque están diseñadas para mantener un buen funcionamiento de éste. Si se compara el cuerpo con una máquina, cada una de sus partes debe de estar en buen estado y en una posición adecuada, porque trabajan en conjunto y coordinadas para un buen funcionamiento, pero cuando hay algún desequilibrio o alguna parte se deteriora puede ocasionar un daño severo por lo que se requiere reparar o sustituir la parte dañada para recuperar la función.

En nuestro cuerpo sucede lo mismo, debido a la edad, a diversas enfermedades, a los accidentes, entre otros., el organismo deja de funcionar adecuadamente. El problema es que la reparación de las estructuras no es un proceso sencillo, por lo que una consecuencia puede ser la discapacidad de poder llevar a cabo las actividades que a diario se realizan. Para evitar la pérdida completa de la función se utiliza el método de sustitución para el caso de órganos duros como hueso y dientes se usan estructuras metálicas o cerámicas que tratan de ayudar a mantener el buen funcionamiento de la parte afectada y/o de restaurar la función del órgano afectado.

Este trabajo se centra en el análisis bibliográfico desde un enfoque biológico sobre una alternativa que se basa en el desarrollo de sustitutos biológicos para reparar o regenerar el daño ocasionado por una enfermedad degenerativa como es la osteoartritis (OA) la cual se caracteriza por un daño estructural y bioquímico del cartílago articular (Simon y Jackson, 2006). Además se analizará la estructura del cartílago articular que está presente en las articulaciones.

Este estudio se enfocará a la rodilla, ya que es la articulación mas grande del cuerpo, es la mas compleja dada la cantidad de estructuras internas que la componen, es necesaria ya que no existe una actividad que implique desplazamiento en la cual no la utilicemos y es en la cuál la mayoría de las personas mayores de 40 años presenta algún problema degenerativo. Además de la edad, otra de las causas que predisponen al daño articular en la rodilla son: el impacto repetitivo, deportes extremos como saltos con patineta, patinaje, básquetbol entre otros, los traumatismos, la cirugía y las enfermedades degenerativas como es el caso de la osteoartritis. El patrón que comparten en común

todas ellas es que se afecta el cartílago articular, llegando a ser tan grave la lesión en la superficie articular que se pierde, esto es debido a que la capacidad de regeneración del cartílago es limitada por sus características biológicas: el ser aneural y avascular, por lo tanto no responde a los procesos de reparación como todos aquellos tejidos vascularizados, por lo que se han planteado alternativas para su reparación y/o regeneración, entre ellas se encuentra la ingeniería de tejidos, que es una área multidisciplinaria que se basa en el uso de células sembradas en andamios (scaffolds) para formar un sustituto biológico o constructo que es implantado en el tejido dañado para promover la regeneración del cartílago articular.

Esta investigación presenta trabajos realizados por diversos investigadores que han buscado alternativas factibles para la regeneración de cartílago articular mediante la ingeniería de tejidos utilizando diferentes fuentes de células, de andamios así como de biorreactores, para lograr reparar el daño y mantener la homeostasis del cartílago articular.

## **2. OBJETIVOS**

- ❖ Comprender las propiedades del cartílago articular y su función en la rodilla.
- ❖ Conocer los cambios biológicos del cartílago articular ocurridos en una alteración de la estructura articular en una enfermedad degenerativa como la osteoartritis (OA).
- ❖ Investigar la aplicación de la ingeniería de tejidos en la reparación del cartílago articular osteoartrítico.

## **3. PROCEDIMIENTO**

Consulta y análisis de libros y artículos de las revistas obtenidas de las bases de datos: Pub Med y Science direct. Para lograr entender porque la ingeniería de tejidos se ha planteado como una alternativa para reparar las lesiones articulares y recuperar la función de las articulaciones, que diariamente utilizamos. Ya que están presentes en los dedos, manos, pies, rodillas, cadera, cuello, las cuales nos permiten el libre movimiento. En esta revisión es importante señalar las principales características bioquímicas e histológicas del cartílago articular.



## 4. CARTÍLAGO

El cartílago es tejido conectivo especializado en el que la matriz extracelular está alterada por la adición de sustancias que cambian su consistencia para proporcionar elasticidad, gran resistencia y algo de rigidez. Se origina a partir de células mesenquimales, estas retraen sus prolongaciones y se acumulan en densos agregados, llamado tejido protocondral o centros de condricación, conforme crecen se diferencian y van segregando alrededor una matriz extracelular que contiene fibrillas las cuales quedan embebidas; conforme aumenta el material intersticial se separan unas de otras en lagunas y poco a poco asumen características citológicas únicas de los condrocitos (Fawcett, 1987; Shum y Nuckolls, 2002; Pearle, *et al.*, 2005).

### 4.1. Tipos de cartílago

Existen tres tipos de cartílago: el cartílago elástico, el fibrocartílago y el cartílago hialino (Ham, 1983), cada uno es distinto en su naturaleza estructural y bioquímica, depende del sitio la adaptación funcional específica (Isogai, *et al.*, 2006).

El cartílago elástico, es un tejido que contiene elastina, se encuentra en el oído externo, en las paredes de conducto auditivo externo, las trompas de Eustaquio y en la epíglotis. Se caracteriza por su color amarillo, su opacidad y sobre todo su elasticidad (Fawcett, 1987; Ham, 1983; Isogai, *et al.*, 2006).

El fibrocartílago, es un tejido compuesto por abundante colágena tipo I, se encuentra en los discos intervertebrales, en meniscos, en la sínfisis pubiana, en el ligamento redondo del fémur y en los lugares de inserción en el hueso de algunos tendones (Fawcett, 1987; Isogai, *et al.*, 2006).

El cartílago hialino en griego *hyalos* =vidrio, es un tejido con apariencia de una sustancia pulida y firme, blancoazulada y translúcida, presenta fibras de colágena tipo II principalmente. El esqueleto fetal esta constituido de este tipo de cartílago que es

sustituido por hueso durante la formación de los huesos largos del cuerpo (Fawcett, 1987; Gardner, *et al.*, 1974).

#### **4.2. Localización**

El cartílago maduro se localiza en dos sitios después del término del crecimiento posnatal, el primero en estructuras cartilaginosas extraesqueléticas, por ejemplo en anillos de cartílago en la pared de la tráquea, en tubos aéreos que comunican con los pulmones, láminas de cartílago en laringe, nariz, trompa de Eustaquio y cartílagos costales que unen las costillas con el esternón. El segundo sitio es en las articulaciones móviles (Ham, 1983; Isogai, *et al.*; 2006).

## 5. ARTICULACIÓN

La articulación es una estructura que conecta dos o más huesos entre sí y permite el movimiento entre ellos, además de que facilita el crecimiento de los huesos participantes (Ham, 1983).

### 5.1. Tipos de articulación

Existen diferentes tipos de articulaciones, las cuales pueden dividirse por:

- Su estructura (morfológicamente). Según el tejido que las une en varias categorías: fibrosas, cartilagosas y sinoviales o diartroidales.
- Su función (fisiológicamente). Según el grado de movilidad que puedan dar, como la sinartrosis (no móvil), sínfisis (con movimiento monoaxial) y diartrosis (mayor amplitud o complejidad de movimiento) (Ham, 1983).

Clasificación por su estructura:

- Fibrosas

En estas articulaciones el tejido fibroso es el que une los huesos, la movilidad de estas articulaciones queda definida por la longitud de las fibras del tejido (Gardner, *et al.*, 1974).

- Cartilagosas

Este tipo de articulaciones se presentan entre el cartílago y el hueso, pueden ser sincondrosis cuando están hechas de cartílago hialino o sínfisis cuando son de fibrocartílago:

- Articulaciones cartilagosas primarias, que son uniones pasajeras entre huesos por medio de cartílago, como las uniones entre partes de un mismo hueso en crecimiento.

- Articulaciones cartilaginosas secundarias o sínfisis, que son uniones cartilaginosas entre dos huesos por un cartílago muy robusto, poco movable y definitivo (Ham, 1983; Gardner, *et al.*, 1974).

➤ Sinoviales o Diartrosis

El término diartrosis procede del griego *día*, separación, y *arthron*, articulación. Son articulaciones móviles y presentan cartílago articular en ambas partes de la articulación. La cápsula está reforzada exteriormente por ligamentos extracapsulares e interiormente está cubierta por la membrana sinovial que secreta un lubricante viscoso y transparente llamado líquido sinovial (fig. 1) (Ham, 1983; Gardner, *et al.*, 1974).

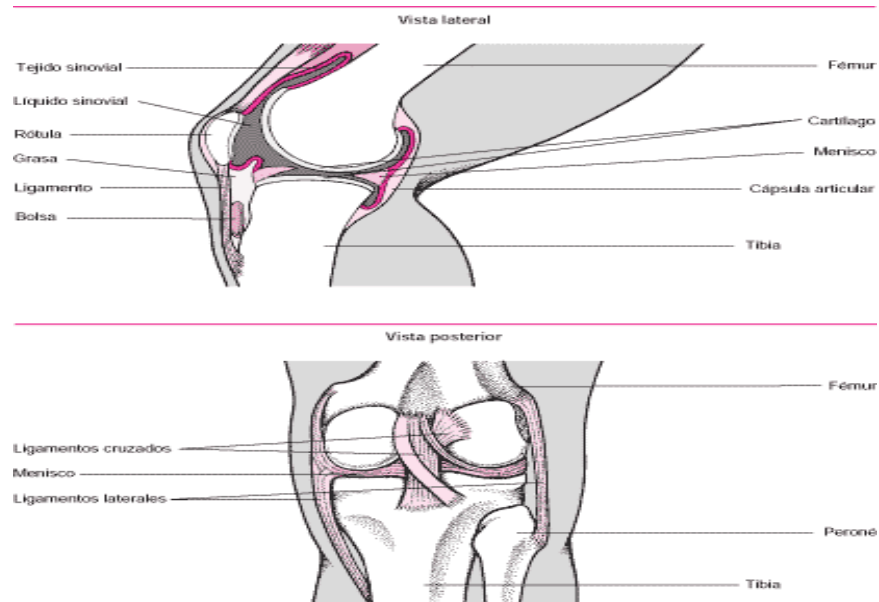
Debido a que la rodilla es una de las articulaciones que mayor desgaste sufre y como consecuencia los pacientes presentan dolor articular que llega a ser discapacitante y en algunos de ellos terminan en reemplazo articular mediante una prótesis, es por lo que estudiaremos a continuación la estructura de la rodilla.

## **5.2. Estructura de la rodilla**

La rodilla (Fig. 1) es una articulación móvil o diartroïdial, es parte importante del cuerpo ya que nos permite caminar, correr, brincar. Está diseñada para protegerse a sí misma, ya que esta envuelta por una cápsula articular que es flexible para permitir el movimiento, pero también tiene fuerza para mantener la articulación unida, además es la más compleja dada la cantidad de estructuras internas que la componen como:

El cartílago articular que cubre los extremos del hueso del muslo (fémur) y de la tibia por lo que ayuda a reducir la fricción entre estos dos huesos durante el movimiento. El tejido sinovial que reviste la cápsula produce el líquido sinovial que lubrica la articulación. Los meniscos son considerados como almohadillas de fibrocartílago que entre otras funciones actúan como amortiguadores entre los dos huesos y ayudan a distribuir el peso del cuerpo en la articulación. Los sacos con fluido (bolsas) proveen protección a los tendones que se mueven sobre el hueso. Los tendones son conexiones entre músculo y hueso, por lo que forman las uniones miotendinosas. Los ligamentos laterales y posteriores de la rodilla refuerzan la cápsula articular, dándole estabilidad. La rótula protege la parte frontal de la

articulación. Los músculos generan fuerzas para el movimiento y estabilidad a la articulación (Reddi, 2003).



**Figura 1.** Vista lateral y frontal de la rodilla indicando las estructuras que la conforman (Merck Sharp & Dohme de España, S.A. 2005).

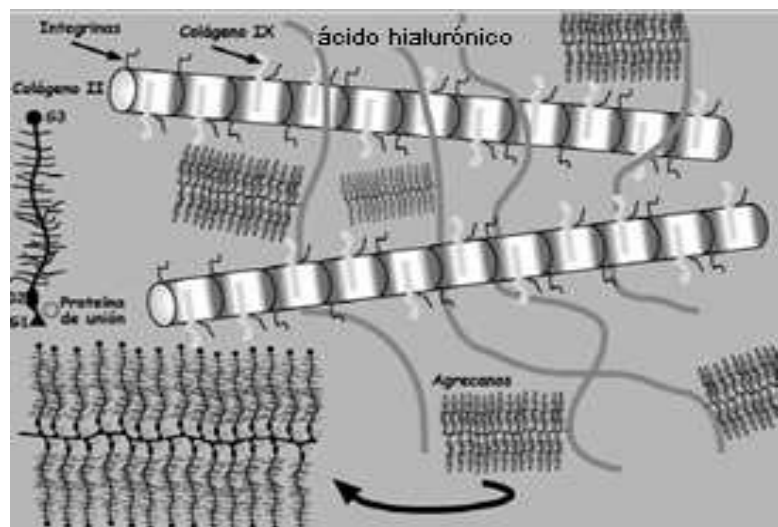
Como ya se vio que la rodilla está compuesta de estructuras complejas que se integran como una, para poder realizar una función tan importante como es moverse. Dentro de ésta estructura uno de los componentes necesarios para el buen funcionamiento es el cartílago articular.

## 6. CARTÍLAGO ARTICULAR

### 6.1. Descripción

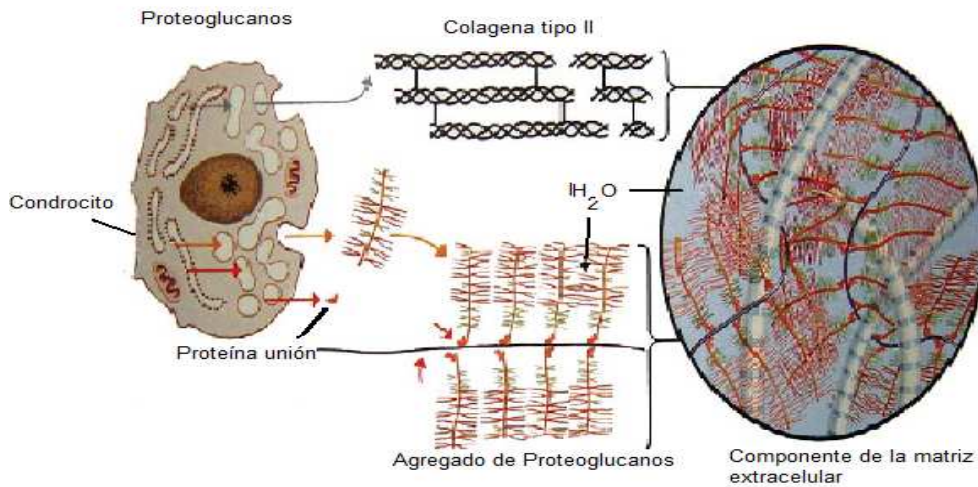
El cartílago articular es un ejemplo del cartílago hialino; este es un tejido aneural, avascular y de baja actividad metabólica. Una de sus funciones es cubrir las terminaciones articulares de las articulaciones diartroideas para reducir la fricción entre el fémur y la tibia en el caso de la rodilla.

Está constituido principalmente de células llamadas condrocitos (Poole, 1997), éstos producen los componentes primarios de la matriz extracelular (fig. 2) que son: proteoglicanos, colágenas, glucoproteínas y otras proteínas presentes en menor cantidad (Ham, 1983).



**Figura 2.** Esquema de la composición molecular de la matriz extracelular del cartílago articular, la cual contiene: colágena tipo II, IX, ácido hialurónico, agreganos, proteínas de unión, entre otros (Vega, *et al.*, 2002).

Todos estos componentes se organizan y mantienen la estructura de la matriz extracelular (fig. 3) que le proporcionará al cartílago articular su funcionalidad.



**Figura 3.** Los condrocitos sintetizan la colágena y los proteoglicanos ambos forman la matriz extracelular del cartílago, la cual es capaz de retener grandes cantidades de agua (Sopena, *et al.*, 2003).

Debido a lo anterior los condrocitos son responsables del mantenimiento, de una estable y abundante matriz extracelular así como del balance entre el anabolismo y el catabolismo, que es crucial para la homeostasis de este tejido (Pearle, *et al.*, 2005).

El balance entre hidratación de los proteoglicanos de la matriz y la resistencia a la expansión impuesta por una red de colágena, le provee propiedades hidrodinámicas y da la transmisión suave de compresiones mecánicas a través de la articulación (Poole, 1997).

Ahora bien si el cartílago es un tejido avascular ¿como es que los condrocitos se nutren?

### 6.1.1. Nutrición

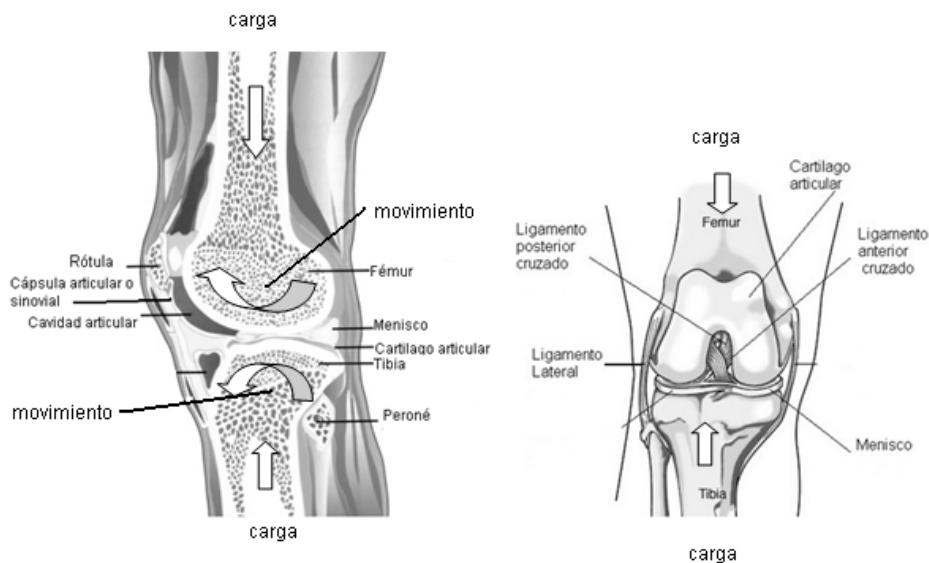
La forma en la que se nutre es obteniendo los nutrientes por difusión de los tejidos que están alrededor de él, como del líquido sinovial y del estrato óseo subyacente. Esto es gracias al gran contenido de líquido en la matriz que permite que los nutrientes, gases y productos de desecho se difundan en uno y otro sentido entre los capilares situados fuera del cartílago; aunque el paso de los nutrientes a través de la MEC depende del tamaño, composición y carga eléctrica de las moléculas que se van a difundir, además de la concentración composición y organización de los proteoglicanos (Vega, *et al.*, 2002; Fawcett, 1987; Pearle, *et al.*, 2005).

### 6.1.2. Función

La función del cartílago es reducir la fricción, resistencia a dañarse o deteriorarse ya que está diseñado para soportar y distribuir la carga (fig. 4). Es un tejido altamente especializado con un comportamiento mecánico único (Fawcett, 1987; Pearle, *et al.*, 2005).

Los condrocitos y la matriz extracelular proveen un mecanismo de suspensión hidroelástica capaz de absorber, redistribuir y transmitir la compresión fisiológica y las fuerzas de cizallamiento al hueso subcondral, esto se atribuye a la baja permeabilidad hidráulica y a una alta tendencia de hidratación de los proteoglicanos. Cuando una carga se aplica, se da una expansión del cartílago gracias a la deformación elástica de la matriz, ya que los proteoglicanos están unidos al agua y se mueven a regiones no comprimidas de la matriz, cuando la carga se elimina los proteoglicanos regresan a su estado normal para dar un equilibrio entre la carga aplicada y el potencial de hidratación de los proteoglicanos de la matriz (Poole, 1997).

Para poder llevar a cabo estas funciones biomecánicas, el cartílago articular tiene una organización particular.



**Figura 4.** Esquema de la vista lateral y frontal de la rodilla, en la cual se muestra la distribución de la carga y del movimiento (flechas) (Staywell Custom Communications, 2006).



## 6.2. Organización del cartílago articular.

El cartílago articular por su organización tisular se divide en cuatro zonas (fig. 5): zona superficial, zona media o de transición, zona profunda y zona de cartílago calcificado.

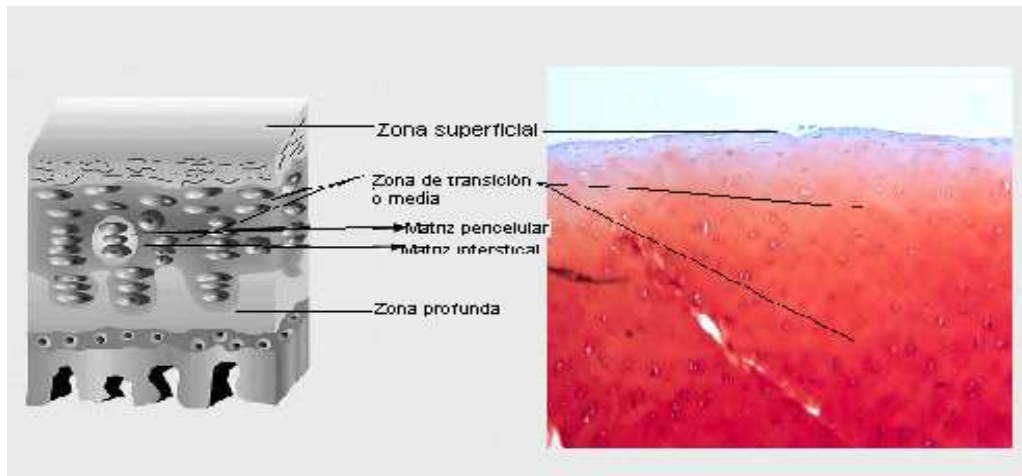
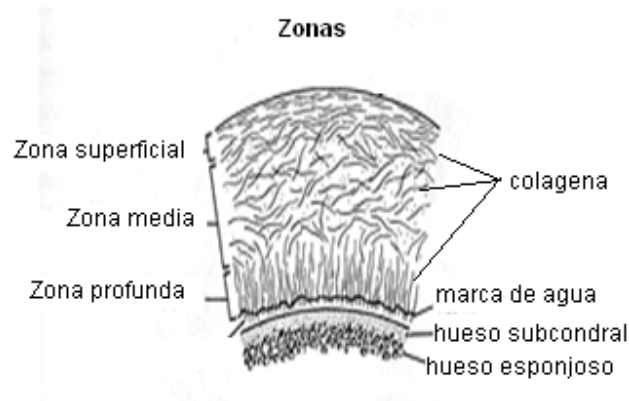


Figura 5. Izquierda) Esquema de un fragmento de cartílago articular mostrando las zonas en las que se divide el cartílago articular (superficial, de transición o media y profunda) y la forma de los condrocitos en las diferentes zonas (Vega, *et al.*, 2002). Derecha) Corte histológico de cartílago articular de humano teñido con safranina O, en el cual se indican las zonas superficial, de transición o media (García, 2007).

La zona superficial es la parte más externa del cartílago y forma la superficie de deslizamiento y resistencia, tiene un alto contenido de paquetes densos de fibrillas de colágena tipo II principalmente y están arregladas en forma paralela a la superficie (fig. 6) lo cual, le da la característica de opacidad hialina, los condrocitos son alargados con el eje mayor paralelo a la superficie, la concentración de proteoglucanos es baja y la concentración de agua es alta (Sopena, *et al.*, 2003; Poole, 1997). Tiene un bajo módulo de compresión, éste es un estado de tensión en el cual las células se comprimen entre si, en esta zona, la forma en la que se encuentran las células y el contenido de agua al recibir una carga tiende a deformarse (Pearle, *et al.*, 2005).

La zona media o de transición contiene fibras de colágena con un gran diámetro, es menos aparente su organización y están alineadas oblicuamente hacia la superficie, (fig. 6) los condrocitos tienen una forma mas redondeada o esférica, la cantidad de proteoglucanos aumenta y tiene un gran módulo de compresión (Einhorn, 2007; Poole, 1997),.

La zona profunda contiene una alta concentración de proteoglicanos, la concentración de agua es menor, las fibras de colágena tienen un gran diámetro y están organizadas perpendicularmente a la superficie articular (fig. 6), los condrocitos son esféricos y están ordenados de una forma columnar; tiene un gran módulo de compresión por la forma columnar en que están ordenadas las células soportan mas la carga y la deformación es menor (Pearle, *et al.*, 2005).



**Figura 6.** Diagrama de una sección sagital de cartílago articular en el cual se muestra las tres zonas del cartílago y la organización de las fibras de colágena. En la zona superficial las fibras de colágena esta en forma paralela, en la zona media las fibras de colágena están en forma oblicua y en la zona profunda las fibras de colágena esta en forma perpendicular, esto con respecto a la superficie articular (Einhorn, *et al.*, 2007).

La zona de cartílago calcificado separa al cartílago hialino del hueso subcondral (fig. 7) y esta caracterizado por células pequeñas distribuidas en una matriz cartilaginosa incrustada con sales de hidroxapatita, hay ausencia de proteoglicanos y las fibras de colágena radiales están ancladas a una matriz calcificada.

La marca de agua (tidemark) separa la zona profunda de la zona calcificada (fig. 7) (Einhorn, *et al.*, 2007; Poole 1997; Pearle, *et al.*, 2005).

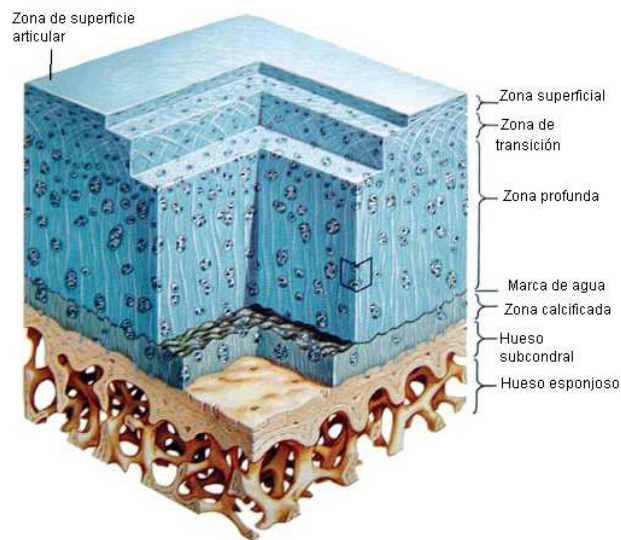


Figura 7. Representación esquemática de un fragmento de cartílago articular en el cual se indican las zonas superficial, transicional, profunda, la marca de agua (tidemark), la capa calcificada, el hueso subcondral y el hueso esponjoso (Sopena, *et al.*, 2003).

Debido a que la función del cartílago articular es dependiente de las características de la matriz extracelular, es necesario señalar algunas de sus principales características.

### 6.3. Tipos de matriz extracelular en el cartílago articular

La MEC de acuerdo a su relación con el condrocito se divide en región pericelular, territorial e interterritorial dependiendo de la proximidad con el condrocito (fig. 8).

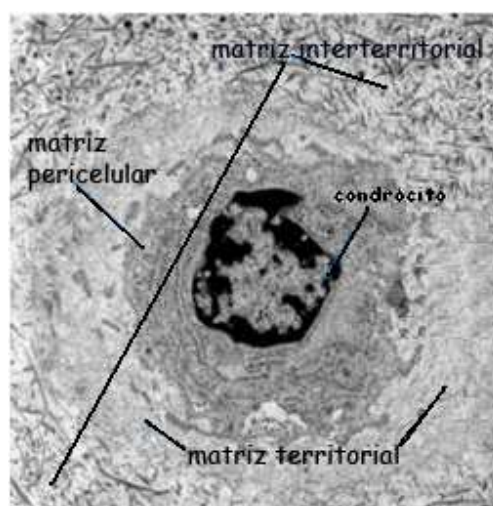
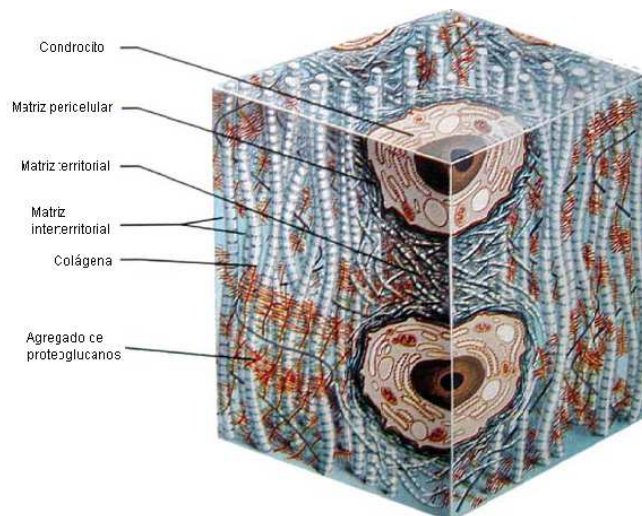


Figura 8. Esquema de un condrocito articular en el cual se señala los tipos de matriz extracelular que se presentan en el cartílago articular, las cuales son matriz pericelular que rodea al condrocito, la matriz territorial esta rodea a la matriz pericelular y la matriz interterritorial (Poole, 1997).

La matriz pericelular, es una zona adyacente a la membrana celular que rodea completamente al condrocito, contiene proteoglicanos sulfatados, hialuronato, biglicano y otras glucoproteínas incluyendo la proteína de unión, fibronectina, laminina y colágena tipo II, VI, IX (Einhorn, *et al.*, 2007; Poole, 1997).

La matriz territorial, ésta rodea a la matriz pericelular, la cual presenta proteoglicanos como el condroitín sulfato, fibras delgadas de colágena las cuales le dan una apariencia de red fibrilar, pero contiene una baja cantidad de colágena tipo IX (Einhorn, *et al.*, 2007; Poole, 1997).

La matriz interterritorial es la región de la matriz mas grande, contiene fibras de colágena largas que están alineadas radialmente, es baja la cantidad de colágena tipo VI, no hay colágena tipo IX y presenta muchos proteoglicanos (fig. 9) (Einhorn, *et al.*, 2007; Poole, 1997).



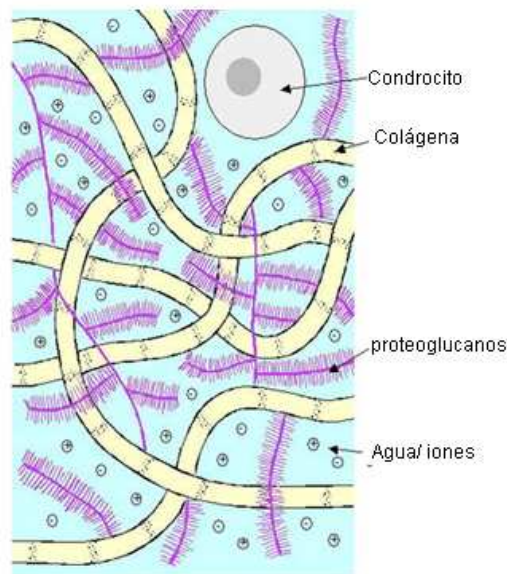
**Figura 9.** Esquema en el cual se muestra el arreglo de los condrocitos, colágena, proteoglicanos y los tres tipos de matriz (pericelular, territorial e interterritorial) en el cartilago (Sopena, *et al.*, 2003).

#### **6.4. Composición de la matriz extracelular cartilaginosa**

La matriz extracelular del cartilago articular está compuesta de dos fases, una sólida y una fluida. La fase sólida consiste de colágena principalmente tipo II y de proteoglicanos (fig. 10), tiene una baja permeabilidad debido a su gran resistencia de fricción hacia el flujo del fluido. La fase líquida que está compuesta de agua y iones;

cuando se da una resistencia en la fase sólida se crea una gran presión del fluido intersticial en la fase fluida, ambas partes establecen la dureza y las propiedades viscoelásticas del tejido (Pearle, *et al.*, 2005).

La mezcla del fluido y de la matriz extracelular provee las propiedades biomecánicas de baja fricción; los componentes principales en el cartílago articular son: agua, colágena tipo II y grandes agregados de proteoglicanos, además moléculas en menor cantidad como proteínas, lípidos, fosfolípidos y otras colágenas (Pearle, *et al.*, 2005).

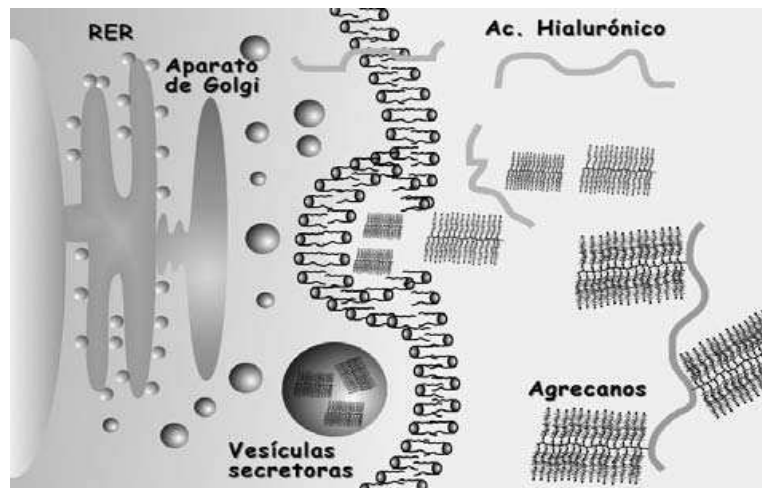


**Figura 10.** Diagrama de los principales componentes de la matriz extracelular del cartílago articular los cuales son: condrocitos, proteoglicanos, colágena, agua y iones ([http://www.emba.uvm.edu/~iatriadis/me301/cartilage\\_intro.pdf](http://www.emba.uvm.edu/~iatriadis/me301/cartilage_intro.pdf)).

#### 6.4.1. Proteoglicanos (PG)

Los proteoglicanos son macromoléculas complejas responsables de la resistencia a la compresión del cartílago, se componen de una proteína central con cadenas de polisacáridos llamados glucosaminoglicanos (GAGs) que están unidos covalentemente, éstos glucosaminoglicanos están formados de una cadena larga, no ramificada, con unidades de disacáridos (hexosamina) repetidos, además todas las cadenas de glucosaminoglicanos tienen repetido un carboxilo (COOH) y/o grupos sulfato (SO<sub>4</sub>) (Einhorn, *et al.*, 2007; Sopena, *et al.*, 2003). Los glucosaminoglicanos se unen a un núcleo protéico formando agreganos y proteoglicanos, los agreganos se unen mediante proteínas

de enlace al ácido hialurónico, el cual es un GAG no sulfatado (fig. 11), tienen una gran capacidad para retener agua y son responsables de la estructura porosa del cartílago (Sopena, *et al.*, 2003). Los principales GAGs son condroitín sulfato (CS), el dermatán sulfato (DS), el queratán sulfato (QS), heparán sulfato (HS) y el ácido hialurónico (AH) (Ferdous y Grande-Allen, 2007).



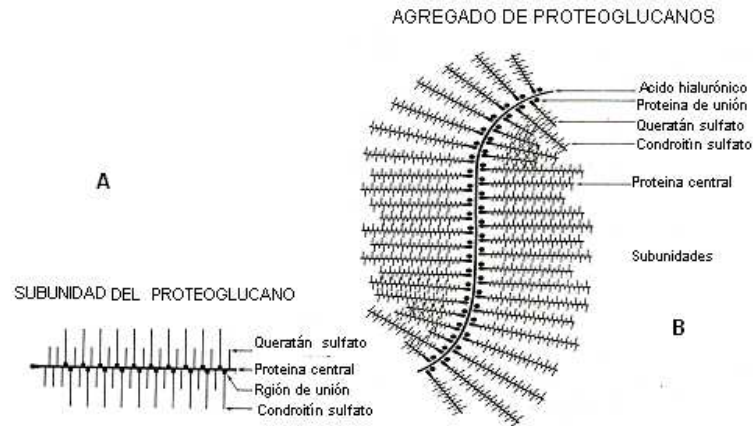
**Figura 11.** Representación esquemática de la secreción de los proteoglicanos y del ácido hialurónico (AH). Muestra que estas proteínas son sintetizadas en el núcleo, pasan al retículo endoplásmico rugoso (RER), después al aparato de Golgi y finalmente son secretadas por medio de vesículas al espacio extracelular en la cual se da el ensamblaje de los proteoglicanos (Vega, *et al.*, 2002).

Así que una subunidad del proteoglicano consiste de una proteína central de una longitud variable, la cual está unida covalentemente a las cadenas de glucosaminoglicanos, las subunidades se asocian con el ácido hialurónico a través de una proteína central y una proteína de unión para formar un agregado de proteoglicano (fig. 12) (Genneser, 2000).

Por lo que los proteoglicanos son un grupo con una diversidad estructural, ya que pueden contener diferentes tipos de GAGs, diferente número y longitud de cadenas de GAGs, diferente estructura de proteína central y los PG pueden presentarse en forma monomérica o agregada con el AH.

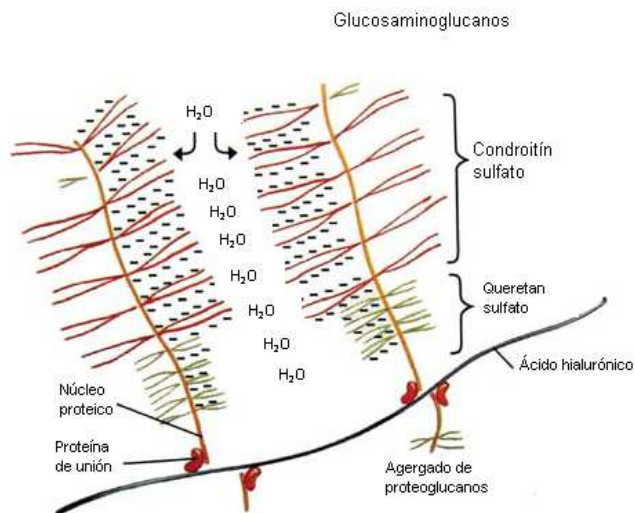
La proteína central y las cadenas de GAGs de los PG tienen un papel importante en la remodelación del tejido, salida de proteínas y migración celular; además participan en la señalización intracelular por que actúan como receptores en la superficie celular para unir

moléculas de señalización como factores de crecimiento y otras proteínas (Ferdous y Grande-Allen, 2007).



**Figura 12.** Esquema estructural de un proteoglicano. A) Es una subunidad del proteoglicano donde el condroitín sulfato y el queratán sulfato están unidos covalentemente a una proteína central para formarla. B) Es el agregado de muchas subunidades de proteoglicanos donde están unidas por el ácido hialurónico y una proteína de unión (Genneser, 2000).

Los grupos sulfatos y grupos carboxilo presentes en las unidades repetidas de disacáridos en las cadenas brindan una alta densidad de carga aniónica, así que su función se puede relacionar con sus propiedades físicas y químicas, ya que pueden interactuar electrostáticamente con una variedad de moléculas catiónicas, las cuales son importantes para el transporte de electrolitos y agua (fig. 13), también pueden interactuar con moléculas de tropocolágeno cargadas positivamente.

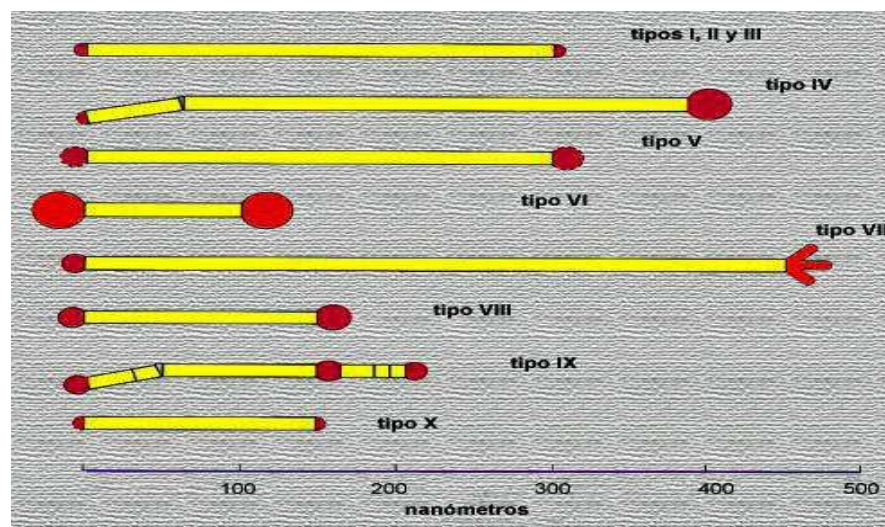


**Figura 13.** Diagrama de los principales componentes presentes en proteoglicanos, los cuales son: ácido hialurónico, proteína de unión, núcleo proteico., glucosaminoglucanos (condroitín sulfato, queratán sulfato, entre otros) y agua (Sopena, *et al.*, 2003).

Debido a lo anterior son importantes en la permeabilidad, transporte y funciones osmóticas del fluido intersticial ya que pueden excluir o atrapar moléculas de diferentes tamaños, además sirven como redes que incrementan la viscosidad del fluido intersticial y contribuyen a la lubricación y función mecánica (Genneser, 2000). Los proteoglicanos forman tramas enmarañadas y compactas dentro del espacio interfibrilar de la colágena los cuales ayudan a mantener una matriz permeable-porosa y determina el movimiento de la fase fluida de la matriz (Pearle, *et al.*, 2005).

### 6.4.2. Colágena

En el cartílago articular mas del 50% del peso seco consiste de colágena, predominando la colágena tipo II, en poca cantidad se encuentran las colágenas tipo I, V, VI, IX, X y XI (fig. 14) (Einhorn, *et al.*, 2007; Poole, 1997; Genneser, 2000).



**Figura 14.** Tipos de colágena entre las cuales se encuentra la colágena tipo II, tipo IV, tipo VI, tipo IX; que están presentes en el cartílago articular (Sopena, *et al.*, 2003).

La colágena es una proteína extracelular compuesta de tres cadenas polipeptídicas (cadenas  $\alpha$ ) y se caracteriza por tener una estructura de triple hélice, su composición de aminoácidos son principalmente glicina (33% del total de residuos) y prolina (25% del total de residuos), las fibras son delgadas y varían de unos 10 a unos 100nm (fig. 15) (Vega, *et al.*, 2002).



Las colágenas le proveen una gran resistencia a la tensión del tejido, además propiedades de compresión e inmoviliza a los proteoglucanos dentro la matriz extracelular (Einhorn, *et al.*, 2007; Sopena, *et al.*, 2003).

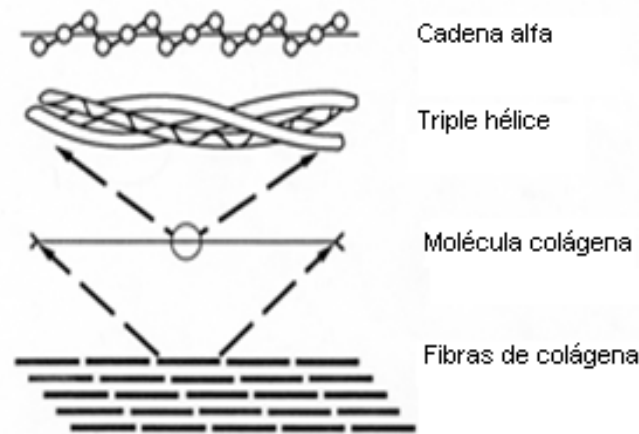


Figura 15. Esquema de la estructura de la colágena tipo II, que está formada por tres cadenas alfa, con una estructura de triple hélice, formando así una molécula de colágena, éstas se autoensamblan mediante enlaces covalentes formando un empaquetamiento escalonado y periódico para formar una fibrilla ([http://www.emba.uvm.edu/~iatridis/me301/cartilage\\_intro.pdf](http://www.emba.uvm.edu/~iatridis/me301/cartilage_intro.pdf)).

### 6.4.3. Agua

El agua es el componente más abundante en el cartílago articular, por que constituye del 65% al 80% del peso húmedo del tejido. Las sales inorgánicas como el sodio, calcio, cloro y potasio se disuelven en el agua del tejido. La resistencia de fricción y la compresión del agua dentro de la MEC son dos mecanismos por los cuales el cartílago articular tiene la capacidad de soportar mucha carga, el flujo del agua promueve el transporte de nutrientes y provee una fuente de lubricación para la articulación (Einhorn, *et al.*, 2007). La mayoría del agua está contenida dentro del espacio intrafibrilar intersticial creado por la matriz sólida de colágena-proteoglucanos. El contenido de agua esta relacionado con la presión osmótica, generada por las cargas negativas fijadas en los proteoglucanos, esto brinda propiedades de viscoelasticidad, deformación, deformabilidad reversible y capacidad de disipar la carga (Pearle, *et al.*, 2005).

Además de los componentes mencionados existen proteínas en la matriz extracelular entre las cuales se encuentran las:

#### **6.4.4. Glucoproteínas y las proteínas no colágenas**

Estas moléculas también ayudan a la organización y mantenimiento de la estructura macromolecular de la matriz extracelular.

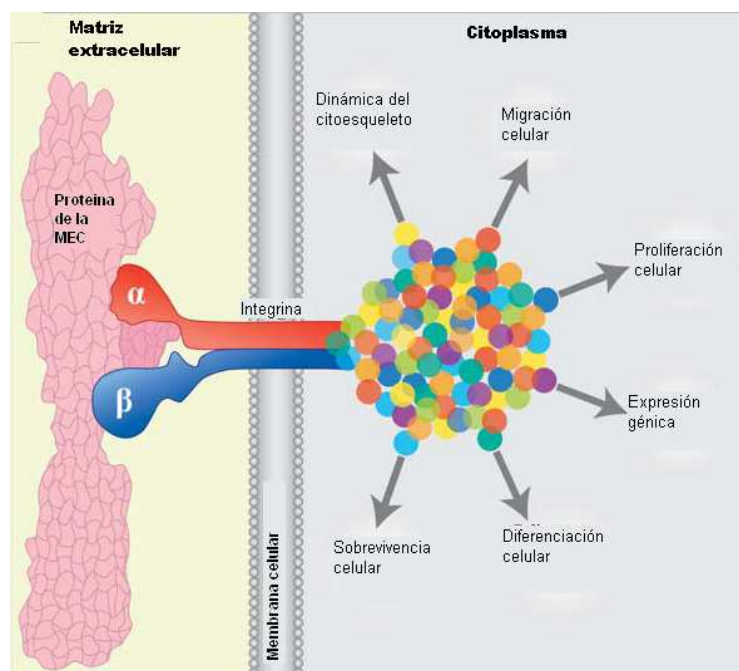
La proteína oligomérica de cartílago (COMP) es una proteína que está dentro de la matriz territorial del condrocito tiene la capacidad de interactuar con las moléculas de adhesión celular para activar vías de señalización intracelular involucrando adhesión con cinasas y paxilina para iniciar la transición de células condroprogenitoras a un condrocito completamente comprometido (Murphy, *et al.*, 1999; Goldring, *et al.*, 2006).

La fibronectina y tenascina son proteínas de la matriz parecen tener importancia en la organización de la matriz, en interacciones célula-matriz y en la respuesta de la inflamación del tejido por osteoartritis y artritis (Einhorn, *et al.*, 2007). La fibronectina es una glucoproteína adhesiva presente en forma soluble en plasma e insoluble en la matriz extracelular, puede unirse a glucosaminoglucanos como el heparán sulfato y ácido hialurónico (Lucena, *et al.*, 2007).

En el cartílago articular las células establecen comunicación con la MEC a través de diversas proteínas entre ellas las integrinas.

#### **6.4.5. Integrinas**

Las integrinas son moléculas de adhesión celular ya que se unen con proteínas de la matriz extracelular y a diferentes receptores. Por lo que regulan varios procesos biológicos (fig. 16) incluyendo el ensamblaje supramolecular de las proteínas de la MEC, la adhesión, la migración de las células, la progresión del ciclo celular, la sobrevivencia celular y la diferenciación.



**Figura 16.** Sitios de adhesiones focales, donde los receptores heterodiméricos ( $\alpha$  y  $\beta$ ) de las integrinas se engranan con proteínas de matriz extracelular (MEC) y moléculas asociadas a cascada de señalización vía integrina-membrana-actina-. Además los receptores de las integrinas tienen un papel central en la movilidad celular, dinámica del citoesqueleto, adhesiones focales que transportan información a través de la membrana celular para regular proliferación celular, diferenciación, expresión génica y supervivencia (Docheva, *et al.*, 2007).

Los condrocitos expresan varias integrinas las cuales median la adhesión a varias moléculas de la matriz del cartílago no sólo en el cartílago articular maduro sino también durante la condrogénesis. Las integrinas  $\beta 1$  son esenciales durante la condensación mesenquimal y durante la diferenciación del condrocito (Aszodi, *et al.*, 2003).

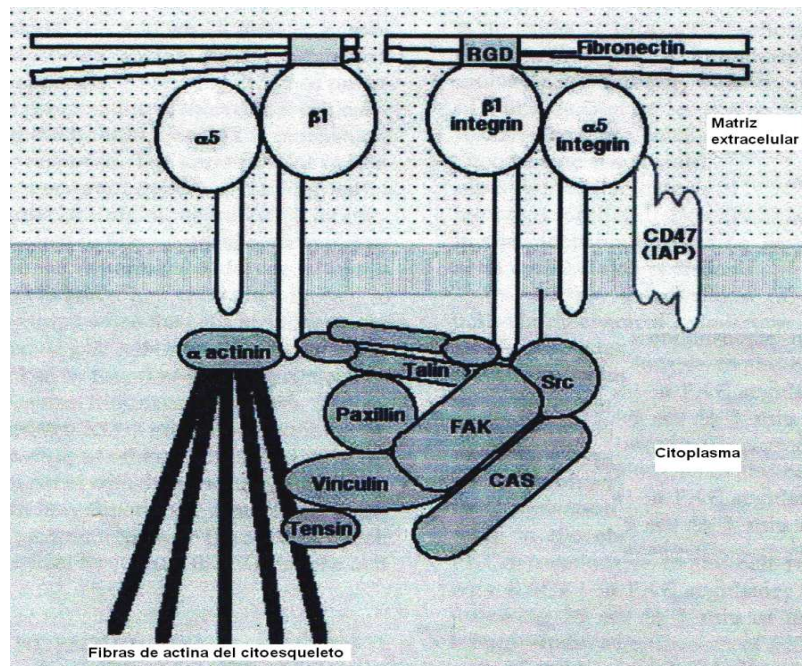
Pertencen a una de las principales familias de receptores de adhesión celular, son glucoproteínas heterodiméricas, están compuestas de dos subunidades una  $\alpha$  y una  $\beta$ , ambas subunidades son proteínas membranales, tienen un gran dominio extracelular y un dominio corto citoplásmico; existen 18 subunidades  $\alpha$  y 8  $\beta$  de las glucoproteínas heterodiméricas en mamíferos, al combinarse producen mínimo 24 diferentes heterodímeros, pueden unirse a un repertorio específico de ligandos (tabla 1) de superficie celular, matriz extracelular o proteínas solubles (Humphries, *et al.*, 2006), los dominios extracelulares se unen a una amplia variedad de ligandos como colágena tipo II y VI, fibronectina, laminina, varias colágenas, tenascina, vitronectina, proteínas de matriz Gla (Kim, *et al.*, 2003), miembros de la familia SIBLINGs (Small Integrin Binding Ligand, N-linked Glycoproteins) como la osteopontina, sialoproteína de hueso y proteína de matriz

dentina. Mientras que el dominio citoplásmico intracelular se ancla a proteínas del citoesqueleto (Docheva, *et al.*, 2007)

Subunidades	Ligandos	
β1	α1	Colágena y lamininas
	α2	Colágena y lamininas
	α3	Colágena, lamininas, fibronectina y entactina
	α4	Fibronectina y VCAM-1
	α5	Fibronectina
	α6	Lamininas
	α7	Lamininas
	α8	Vitronectina, fibronectina y tenascina
	α9	Vitronectina, fibronectina y tenascina
	α10	Colágena
	α11	Colágena
β2	αV	Fibronectina y vitronectina
	αL	ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3
	αM	iC3b, fibrinógeno, ICAM-1 y factor de coagulación X
	αX	Fibrinógeno y iC3b
β3	αD	ICAM-3
	α11β	Fibrinógeno, fibronectina, factor von Willebrand, vitronectina, trombospondina y tenascina
β4	αV	Fibrinógeno, fibronectina, factor von Willebrand, vitronectina, trombospondina, osteopontina y colágena
	α6	Lamininas
	αV	Vitronectina y fibronectina
	αV	Fibronectina y tenascina
	α4	Fibronectina, VCAM-1, MAdCAM-1
	αE	E-cadherina
	αV	Vitronectina
	β8	Vitronectina

**Tabla 1.** Presenta los 24 tipos de combinaciones de los heterodímeros de las Integrinas y sus proteínas ligando para cada tipo de integrina, los cuales se encuentran en la MEC como colágena, laminina, fibronectina, entre otros (Docheva, *et al.*, 2007).

De esta forma el exterior (la MEC) y el interior de la célula (condrocito) están unidos, (fig. 17) lo cual permite una transmisión bidireccional de señales mecánicas y biomecánicas a través de la membrana plasmática lo que lleva a una regulación de diversas funciones de la célula, como son la adhesión célula-célula, (Docheva, *et al.*, 2007) célula-matriz, la migración, la diferenciación, (Qin, *et al.*, 2004), la remodelación del cartílago y condrogénesis (Mobasheri, *et al.*, 2002). También actúan como receptores de señalización ya que transmiten información del sustrato hacia el interior de la célula la cual regresa y es interpretada como señales de crecimiento, de diferenciación o de sobrevivencia (Bokel y Brown, 2002).



**Figura 17.** Diagrama de la estructura de las integrinas y su asociación con moléculas de señalización intracelular y la actina del citoesqueleto. Cada subunidad  $\alpha$  y  $\beta$  consiste de un dominio extracelular largo, una región transmembranal simple y un dominio corto citoplásmico. El dominio extracelular brinda un sitio de unión para una proteína ligando de la matriz extracelular; mientras que el dominio corto citoplásmico interactúa con proteínas adaptadoras, como: moléculas de señalización y la actina del citoesqueleto (Millward-Sadler y Salter 2004).

Debido a lo anterior, tanto la matriz extracelular como los condrocitos que la sintetizan juegan un papel importante en el mantenimiento de la homeostasis del cartílago articular. De tal manera que las células y la MEC son factores a considerar en el diseño de sustitutos biológicos para reparar lesiones del cartílago articular (Goessler, *et al.*, 2004).

Hirsch y colaboradores en el año 1997 realizaron experimentos que han demostrado que los condrocitos *in situ* dependen de la unión célula-matriz vía integrinas ya que permiten mantener la viabilidad y morfología celular normal, incluyendo la forma y el tamaño. También mencionan que en el desarrollo de cartílago la unión célula-matriz es necesaria tanto para la diferenciación como para la sobrevivencia celular. Demostraron que el bloqueo de las interacciones célula-matriz con anticuerpos específicos de las subunidades de las integrinas cambia la forma nuclear y celular e incrementa la muerte celular programada. Ellos proponen que el cambio en la morfología está directamente relacionado con la interrupción de la actina del citoesqueleto, un resultado directo del bloqueo de la vía de transducción de señal unida a la integrina (Hirsch, *et al.*, 1997).

Se ha establecido en muchos tipos celulares que la unión del receptor de la integrina con los sustratos de la matriz extracelular estimula la superfamilia Rho, Rac y Cdc42 y las pequeñas GTPasa que a su vez regula la actina del citoesqueleto (Hirsch, *et al.*, 1997).

Otras moléculas transmembranales que funcionan como receptores para las moléculas de la MEC son las anexinas.

#### **6.4.6. Anexinas**

Las anexinas son receptores de superficie celular, son proteínas de unión a calcio y a fosfolípidos, median las interacciones entre los condrocitos y los componentes de la MEC; el receptor principal en los condrocitos es la anexina V (ancorina II) la cual se une a la colágena tipo II, aunque todavía es incierto si esta tiene alguna función en la regulación de la homeostasis del condrocito (Kurtis, *et al.*, 2001; Van der Kraan, *et al.*, 2002).

#### **6.4.7. Ácido hialurónico**

El ácido hialurónico puede también unirse a otras moléculas de la matriz extracelular, como colágena, por lo que puede funcionar como puente entre la fibronectina y otros componentes de la matriz involucrados en los procesos de reparación tisular (Lucena, *et al.*, 2007). La unión de los condrocitos al ácido hialurónico por medio del receptor CD44 es esencial para la homeostasis del cartílago ya que está involucrado en el ensamblaje, organización y mantenimiento de la matriz pericelular del condrocito (Kurtis, *et al.*, 2001). Cuando se bloquea el receptor CD44, se afecta la función del condrocito y da como resultado la degradación de la matriz del cartílago (Van der Kraan, *et al.*, 2002).

Existen además mediadores solubles que intervienen en la regulación de los condrocitos entre ellos se encuentran los factores de crecimiento.

#### 6.4.8. Factores de crecimiento

Son polipéptidos, solubles y difusibles producidos en cantidades limitadas que regulan el desarrollo, la proliferación y la diferenciación. Algunos de ellos son de la superfamilia de TGF- $\beta$ , IGFs, factores de crecimiento fibroblástico (FGFs), factores de crecimiento derivados de plaquetas (PDGFs) y el factor de crecimiento epidérmico (EGF).

Los miembros de la superfamilia del TGF-B tienen un papel importante en la estimulación de la reparación del cartílago. El factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) es uno de los inductores más potentes de la condrogénesis y aumentan la síntesis de la matriz extracelular en los condrocitos (Kuo, *et al.*, 2006; Goessler, *et al.*, 2004); ya que puede incrementar la expresión génica del agregano y de la colágena, así como prevenir la pérdida de proteoglucanos durante la OA experimental (Roman-Blas, *et al.*, 2007). Además promueve la diferenciación condrogénica de células progenitoras y aumenta la proliferación de los condrocitos (Holland, *et al.*, 2007).

Mientras que el factor de crecimiento parecido a la insulina (IGF) es considerado un factor de crecimiento anabólico del cartílago normal, ya que incrementa la síntesis de proteoglucano, colágena tipo II, integrinas, a la vez inhibe la destrucción de la MEC, por que su función es modulada por la interacción con proteínas de unión a IGF, y favorecen la adhesión de los condrocitos a la fibronectina (Vega *et al.*, 2002; Goessler, *et al.*, 2004).

Las Proteínas morfogenéticas de hueso (BMPs) son proteínas diméricas con una intercadena simple con enlace disulfuro, forman una familia de factores de crecimiento y de diferenciación, están relacionadas con TGFs  $\beta$  y se han aislado 7 BMPs en vertebrados. Estas moléculas pueden inducir la formación de nuevo cartílago y hueso en sitios ectópicos imitando la secuencia de desarrollo y morfogénesis de la articulación, por lo que tiene propiedades quimiotácticas, mitogénicas y de inducción de diferenciación (Reddi, 2001). Son iniciadores de la formación de cartílago y hueso (Nissinen, *et al.*, 1997), además son importantes en la homeostasis y patología del cartílago; estas son retenidas dentro de la matriz extracelular y su papel es esencial durante la condrogénesis debido a la modulación de la disponibilidad de BMPs (Goessler, *et al.*, 2004).

Los Factores de crecimiento fibroblástico (FGFs) son pequeños factores polipeptídicos, la mayoría se unen al heparán sulfato de la matriz extracelular. Los FGFs se unen a receptores específicos dando como resultado una activación celular para la expresión de proteoglicanos en especial del heparán. Además han mostrado promover la rediferenciación así como proliferación, y se han utilizado para incrementar el número celular de los condrocitos en cultivo *in vitro* (Goessler, *et al.*, 2004).

Factor de crecimiento de tejido conectivo (CTGF) es un factor multifuncional para fibroblastos, condrocitos y células endoteliales vasculares, dependiendo con el tipo de célula que interactúe promueve quimiotaxis, migración, adhesión, proliferación, diferenciación y/o formación de MEC (Goessler, *et al.*, 2004).

Para proponer las diversas alternativas de reparación articular se considera necesario mencionar cuales son las características biológicas que adquiere el cartílago cuando se encuentra lesionado, por lo que se tomará una sola patología para ejemplificarlo la cual es la osteoartritis.



## **7. DEGENERACIÓN DEL CARTÍLAGO ARTICULAR**

Como se mencionó, para que el cartílago articular mantenga su homeostasis existe una dependencia mutua entre la adhesión del condrocito hacia la matriz extracelular y la regulación del comportamiento del condrocito por parte de los factores de crecimiento. Cuando se da un desequilibrio en la homeostasis de éste tejido se dejan de llevar a cabo sus funciones biomecánicas.

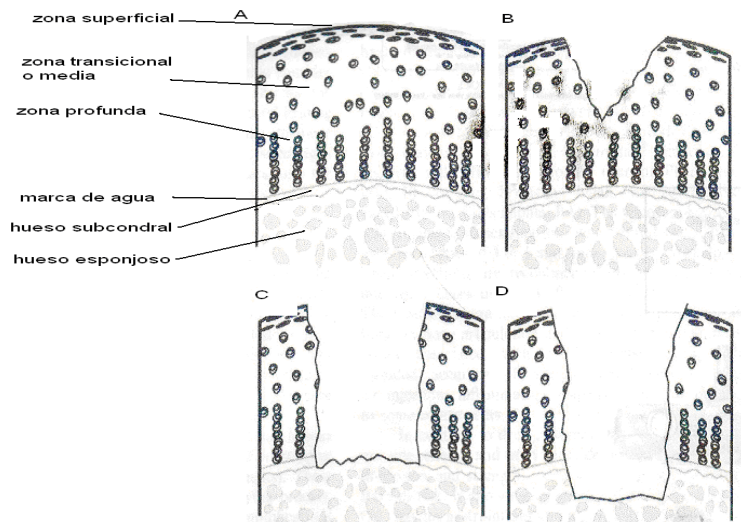
### **7.1. ¿Por qué se daña el cartílago articular?**

Se han descrito factores que predisponen al daño del cartílago articular como son: el envejecimiento, el sobrepeso, lesiones traumáticas y el impacto repetitivo, entre otras. Sin embargo, al parecer una de las principales razones es que la capacidad de reparación del cartílago es limitada debido a que en el cartílago maduro los condrocitos que ya están en el tejido pierden su capacidad para migrar, proliferar y para incrementar la síntesis de la matriz que los rodea; por lo que su participación en la respuesta de reparación es muy baja. Así que, la degeneración celular programada limita la capacidad de responder a un estímulo y sintetizar componentes de la matriz extracelular debido a esto es casi nulo el potencial de curación del cartílago articular (Simon y Jackson, 2006).

### **7.2. Tipos de daño**

Los tipos más comunes de daño o lesión del cartílago (fig. 18) incluyen:

- 1) Lesiones limitadas a la zona superficial y media.
- 2) Lesiones que llegan hasta el hueso subcondral pero no lo penetran.
- 3) Lesiones que penetran hasta el hueso subcondral.



**Figura 18.** Ilustra varios tipos y profundidad de defectos del cartílago articular. A. Cartílago articular normal y su organización en zonas. B. Daño parcial los defectos penetran a la zona media y están lejos del suplemento sanguíneo y de la médula. C. El defecto llega al hueso subcondral pero no lo penetra. D. El defecto penetra a través de todas las zonas del cartílago articular y penetra hasta el hueso y estas lesiones demuestran una reparación que resulta en fibrocartílago (Simon y Jackson, 2006).

Un daño superficial o trauma reciente no se presenta como un cambio importante con manifestación clínica, debido a que el cartílago es un tejido aneural. Un daño severo es detectado principalmente por los síntomas de dolor debido a la lesión en el hueso subcondral y la incapacidad para mover la articulación. Esto es corroborado por una imagen de rayos X o de resonancia magnética (MRI) (Simon y Jackson, 2006).

La enfermedad degenerativa que se ha escogido para mostrar algunas alternativas de reparación mediante la ingeniería de tejidos, es la osteoartritis debido a que conforme pasen los años, se detectarán cada día más pacientes con esta enfermedad del cartílago articular, algunas de las razones son el incremento de personas con sobrepeso, las actividades de gran impacto en la rodilla como: saltos en patineta, los ejercicios donde suben y bajan de un escalón, entre otros.

## 8. OSTEOARTRITIS (OA)

### 8.1. Descripción

La osteoartritis (OA) es el resultado de la pérdida de la homeostasis entre los condrocitos y su matriz extracelular. Es la enfermedad más común en individuos de más de 40 años, los efectos del daño ocasionado se observan a largo plazo ya cuando el cartílago está muy lesionado y frecuentemente es referenciada por el paciente como dolor musculoesquelético persistente (Simon y Jackson, 2006).

En etapas tempranas se caracteriza patológicamente como áreas centrales de daño en el cartílago articular, cambios en el hueso marginal y subcondral, así como una variable inflamación de la membrana sinovial (sinovitis) y un engrosamiento capsular, por lo que la enfermedad finalmente no sólo involucra a los condrocitos y a su MEC, sino a toda la articulación.

Cuando la enfermedad avanza es caracterizada radiológicamente por un estrechamiento del espacio de la articulación, la formación de hueso *de novo* osteofitos (que fija el movimiento de la articulación) así como, cambios en el hueso subcondral (Kidd, 2006). Los principales síntomas son dolor, rigidez, inflamación, crepitación y restricción del movimiento de la articulación (Mobasheri, *et al.*, 2009).

Aunque no se conoce a ciencia cierta que induce la degeneración del cartílago articular se le han asociado cambios relacionados con la edad, predisposición genética y fuerzas biomecánicas anormales que llevan a una alteración de los procesos metabólicos y a la destrucción del cartílago articular. Como ya se mencionó esta enfermedad además de afectar al cartílago también afecta a toda la estructura de la articulación, incluyendo la membrana sinovial, el hueso, los ligamentos y los músculos periarticulares (fig. 19). Además de los factores antes mencionados existen otros factores de riesgo asociados a la aparición de la OA.

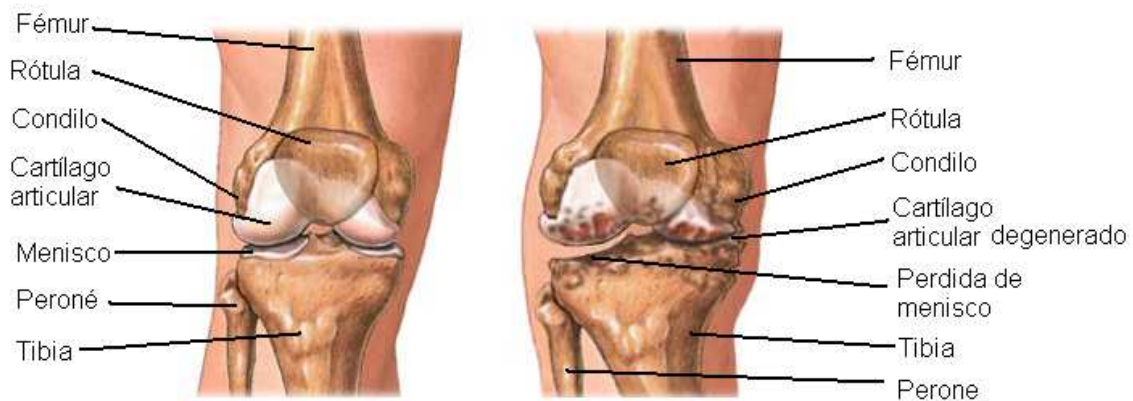


Figura 19. Esquema de la comparación de la rodilla. Rodilla sana (izquierda) la cual muestra los condilos cubiertos de cartílago articular y meniscos sanos. Rodilla afectada por la OA (derecha) la cual muestra cartílago dañado en los condilos, pérdida de meniscos y deformación de la rodilla (Kinast, 2000).

## 8.2. Factores de riesgo

Algunos de los factores de riesgo que predisponen a la OA son: el género, las mujeres tienen mayor predisposición al desarrollo de la OA, las deficiencias nutricionales pueden asociarse también con la aceleración de la enfermedad. Los factores locales incluyen: alguna cirugía previa en la articulación, mientras que los factores extrínsecos incluyen: la obesidad, la debilidad muscular y el uso de la articulación relacionado con la ocupación de los pacientes (Kidd, 2006).

Los cambios que se dan en el cartílago articular cuando es afectado por la OA se deben considerar para el desarrollo de sustitutos biológicos que promuevan la reparación y/o la regeneración del cartílago articular, estos son: alteraciones catabólicas y anabólicas, proliferación, hipertrofia, formación de osteofitos, entre otros.

## 8.3. Mecanismos de acción desde el punto de vista biológico

La OA es comúnmente iniciada por fuerzas biomecánicas anormales que actúan sobre la articulación y aunque la OA es considerada una artropatía no inflamatoria existe evidencia de que hay un incremento en la producción de citocinas y de factores de crecimiento. El condrocito articular presenta cambios complejos los cuales incluyen hipertrofia, proliferación y alteraciones catabólicas; muchos de estos cambios son

inducidos por especies reactivas oxidantes, por la sobreproducción de las quimiocinas y citocinas proinflamatorias como: la IL-1b, TNF-a, IL-6 e IL-17. Estas moléculas mantienen el fenotipo catabólico, aumentando la síntesis de proteasas y la producción de oxidantes que llevan a la muerte del condrocito y a la progresiva degeneración del cartílago (Abramson y Yazici, 2006).

Generalmente los biomarcadores moleculares mas prometedores para las osteoartritis son las moléculas de la matriz del tejido articular quienes aparecen en el fluido sinovial, suero y orina, los cuales reflejan actividades catabólicas y anabólicas del cartílago, aunque actualmente no existen aquellos que con certeza puedan realizar un diagnóstico preciso de osteoartritis (Abramson y Yazici, 2006).

La degeneración del cartílago está caracterizada por dos fases: una fase biosintética y otra fase degradativa. En la primera se da un aumento en la actividad anabólica de los condrocitos, este incremento se puede deber a que se da una respuesta de reparación de los condrocitos para contraatacar la pérdida de la matriz del cartílago, es decir hay un incremento en la síntesis de proteínas de la MEC y algunos autores describen un incremento en la tasa de proliferación. En la segunda fase la actividad de las citocinas inflamatorias como IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-17 y IL-18, producidas por los condrocitos y algunas sintetizadas por la membrana sinovial actúan incrementando la síntesis de las metaloproteinasas de matriz (MMPs) (Connelly, *et al.*, 2008), éstas digieren la MEC, además la síntesis de la matriz es inhibida por que decrecen los inhibidores de las enzimas MMP y la erosión consecuente del cartílago se acelera. Los condrocitos muestran cambios fenotípicos, ya que comienzan a expresar genes de colágena tipo I y tipo III que no son expresados en la matriz del cartílago normal. También se ha determinado la presencia de la colágena tipo X en el cartílago OA, lo que indica que los condrocitos se dirigen hacia la hipertrofia. En el cartílago adulto normal los condrocitos sintetizan los componentes de la matriz lentamente, mientras que las citocinas anabólicas IGF-1, TGF-B1, 2 y 3, factores de crecimiento de fibroblasto (FGFs) 2, 4, 8 y las BMPs actúan para estimular la síntesis de la matriz extracelular; dándose una estricta regulación del movimiento de la matriz, por lo que existe un delicado balance entre la síntesis y la degradación de los componentes de la matriz. (Fukui, *et al.*, 2008; Sandell y Aigner, 2001).

El patrón de reacción celular durante el proceso de la enfermedad osteoartrítica puede resumirse en 5 categorías:

1. Proliferación y muerte celular.

Se han investigado estudios que indican que hay actividad proliferativa en los condrocitos osteoartríticos, esto puede que sea ocasionado por tener un mejor acceso a los factores proliferativos del líquido sinovial debido al daño, rompimiento o pérdida de la matriz de colágena, lo que les permite estar más cerca de la cavidad articular.

En el caso de la muerte celular en el cartílago osteoartrítico tiene un índice bajo aproximadamente 0.1% de la población celular total apoptótica en un tiempo dado, indicando que la muerte de los condrocitos tiene un impacto limitado en la patología de la osteoartritis (Sandell y Aigner, 2001).

2. Cambios en la actividad de síntesis (anabolismo).

En estudios bioquímicos se ha demostrado que en el cartílago osteoartrítico hay un incremento en la síntesis de los componentes de la matriz extracelular, éste aumento en la actividad anabólica es por que los condrocitos intentan reparar la matriz dañada, a pesar de esto se ha encontrado una pérdida neta del contenido de proteoglicanos, esto es uno de los cambios mas frecuentes observado en la degeneración del cartílago osteoartrítico. Los análisis *in situ* muestran que la pérdida de glucosaminoglicanos ocurre en la zona superficial del cartílago articular osteoartrítico, en donde las células disminuyen la regulación de la expresión de los componentes de la matriz; mientras que la expresión de las células de la zona media se mantiene activa (Sandell y Aigner, 2001).

3. Cambios en la degradación (catabolismo).

Los condrocitos del cartílago articular sintetizan metaloproteasas (MMPs) 1, 2, 3, 7, 8, 13 y 14, así como una variedad de serinas y proteinasas, en la OA se incrementa la actividad de enzimas MMP-3 (estromelisin), MMP-8 (colagenasa 2) y MMP-13 (colagenasa 3) muchas de estas MMPs son estimuladas por la

exposición de las células a citocinas inflamatorias como ya se mencionó anteriormente.

En la osteoartritis la degradación de los componentes de la matriz extracelular pueden conducir a la desestabilización de la articulación. Estudios genéticos muestran que mutaciones en la colágena tipo II, conduce a la producción de una red de colágena inestable y eventualmente al desarrollo temprano de OA (Sandell y Aigner, 2001).

#### 4. Modulación fenotípica de los condrocitos articulares en la OA.

Los fenotipos del condrocito son categorizados por el tipo de colágena que presentan. Las células condroprogenitoras son caracterizadas por la expresión de colágena tipo II y procolágena tipo IIA (COL2A). Los condrocitos maduros expresan la colágena tipo II, IX y XI, agregano y proteína de unión. Mientras que los condrocitos hipertróficos expresan la colágena tipo X.

En el cartílago osteoartítico los condrocitos disminuyen la expresión de agregano y colágena tipo II aunque todavía son células activas y expresan nuevas colágenas como las del tipo I y III.

Con lo anterior se puede decir que las alteraciones fenotípicas de los condrocitos, la desactivación y la disminución en la síntesis de proteínas de la matriz extracelular pueden tener un papel importante con respecto a la falla anabólica de los condrocitos del cartílago osteoartítico (Sandell y Aigner, 2001).

#### 5. Formación de osteofitos.

Una de las características consistente en las articulaciones afectadas por la OA es el desarrollo de prominentes nódulos osteocondrales conocidos como osteofitos (osteocondrofitos o condro-osteofitos). Esto lleva a que las articulaciones queden rígidas y no pueden llevar a cabo su función normal (Sandell y Aigner, 2001).

## 8.4. Tratamiento

Los tipos de tratamientos que se dan para disminuir los síntomas secundarios como el dolor y la incapacidad son

El tratamiento no farmacológico como modalidades de calor y frío, rehabilitación, modificación de actividad, bajar de peso.

El tratamiento farmacológico, en el cual lo más frecuente es el uso de antiinflamatorios, analgésicos, viscosuplementación e inyecciones locales de corticosteroides (Simon y Jackson, 2006).

Los tratamientos quirúrgicos para las lesiones condrales dependen de lo oportuno en el diagnóstico; estos incluyen desde la debridación mediante artroscopía y reparación por estimulación de médula ósea, o mediante mosaicoplastia (transplante de múltiples y pequeños injertos osteocondrales autólogos), o el implante de condrocitos autólogos (ICA) dentro del defecto del cartílago, sin embargo estos no se aplican a los defectos de cartílago articular en OA, por que los condrocitos de los pacientes que sufren OA tienen propiedades biológicas diferentes, además de que la extensión del daño es mayor; por lo que el método de reparación en articulaciones severamente dañadas es el reemplazo total de la articulación por una prótesis en caso de lesiones tardías. Por lo que el desarrollo de sustitutos o andamios sintéticos o biológicos, realizado por medio de ingeniería de tejidos (Simon y Jackson, 2006) podría ser una alternativa para el tratamiento del cartílago degenerado por la OA.

En la literatura encontramos pocos estudios realizados en pacientes con OA utilizando la ingeniería de tejidos; entre los cuales están Wakitani y sus colaboradores que investigaron, si células mesenquimales de médula ósea autólogas de pacientes con OA son capaces de reparar defectos de cartílago articular humano en rodillas osteoartíticas utilizando los principios de la ingeniería de tejidos. Sus evaluaciones histológicas después de dos años mostraron formación de cartílago hialino, ellos esperan que el cartílago regenerado tenga a largo plazo mejores resultados y reducir la necesidad de un reemplazamiento total de la articulación (Wakitani, *et al.*, 2002). Otro estudio en el cual



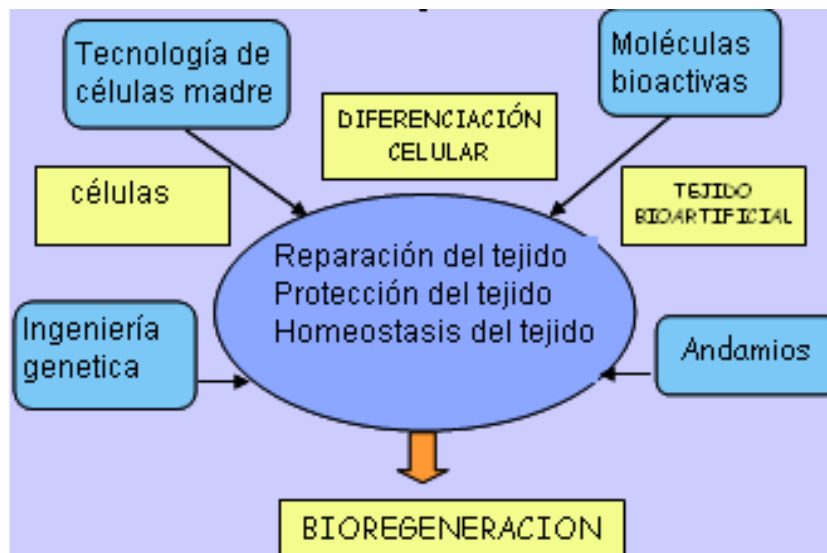
utilizaron células autólogas de pacientes con OA y los principios de la ingeniería de tejidos para formar tejido e implantarlo en rodillas de pacientes que padecían OA, sus resultados mostraron que se formó tejido similar a cartílago hialino pero mencionan que se necesita una revisión mas prolongada para ver si este tejido se mantiene y no degenera (Hollander, *et al.*, 2006). Mas adelante estos estudios se detallarán.

Con estos estudios se puede decir que la ingeniería de tejidos puede ser una alternativa efectiva para reparar el daño del cartílago articular aunque presente OA.

## 9. INGENIERÍA DE TEJIDOS

### 9.1. Definición

La ingeniería de tejidos es una disciplina de la ciencia moderna, en donde se aplican los principios de la ingeniería en combinación con las ciencias biológicas (fig. 20) (Vacanti, 2006) para desarrollar sustitutos biológicos que restauren, mantengan o mejoren la función del tejido dañado (Kaihara y Vacanti, 1999; Goessler, *et al.*, 2004). Por lo que esta disciplina es considerada como una alternativa prometedora para el tratamiento de lesiones del cartílago articular.

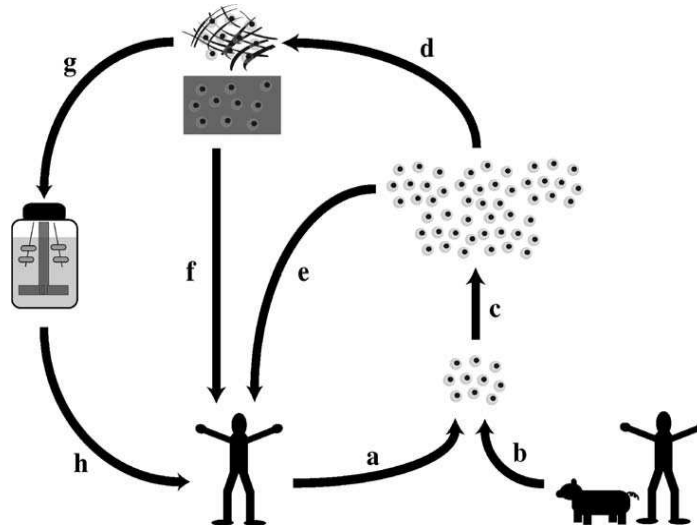


**Figura 20.** Herramientas de la ingeniería de tejidos necesarias para la reparación, protección, así como el mantenimiento de la homeostasis en el tejido; con el fin de obtener su biorregeneración (Schultz, *et al.*, 2000).

### 9.2. Principios básicos de la Ingeniería de Tejidos

La ingeniería de tejidos es una herramienta de la medicina regenerativa. El objetivo fundamental de la ingeniería de tejidos es la regeneración y la restauración de la estructura o función del tejido, así como la de los órganos; esto es a través de la combinación de células vivas con un andamio o biomaterial (scaffolds) *in vitro* o *in situ*, a esta combinación se le llama constructo, ya que está formada de tejido vivo el cual debe ser funcional, estructural y mecánicamente semejante al tejido que está dañado para que pueda ser remplazado (fig.21). El constructo se implanta dentro del tejido dañado para

estimular a sus propias células a crecer dentro de éste para reparar el daño (Goessler, *et al.*, 2004; Vats, *et al.*, 2003).



**Figura 21.** Representación esquemática de los principios básicos de la ingeniería de tejidos, donde observamos que las células pueden obtenerse de tejido autólogo (a), alogénico o xenogénico (b); éstas células son expandidas (c) en un número, las cuales pueden sembrarse (d) en redes de polímeros o encapsulados en hidrogeles naturales o sintéticos y reinyectarse (e) al paciente con o sin un andamio formado *in situ*. Los constructos sembrados con células pueden implantarse (f) o cultivarse (g) en un biorreactor e implantar (h) (Rice, *et al.*, 2005).

## 9.2. Procedimientos y componentes de la Ingeniería de Tejidos

La ingeniería de tejidos se enfoca en la liberación *in situ* de células dentro de un apropiado sistema de transporte, por lo que hay una triple interacción: la sensibilidad de las células (capacidad que tienen las células para recibir estímulos provenientes de su ambiente), la matriz de soporte (andamio) y las moléculas bioactivas (factores de crecimiento) promotoras de la diferenciación y regeneración (Schultz, *et al.*, 2000; Hendrich, *et al.*, 2003).

Uno de los componentes importantes para la regeneración de tejido de *novo* son los andamios de sostén, los cuales se clasifican principalmente en:

1. Andamios acelulares. Estos se usan solos y depende de la capacidad natural del cuerpo para regenerarse.

2. Andamios con células. Estos son sembrados con células, las cuales se obtienen de una pieza pequeña de tejido donado que fue dissociado en células individuales y expandidas en cultivo, por lo que se forma un complejo célula-matriz (constructo) el cual se implanta en el paciente (Koh y Atala, 2004).

### **9.3.1. Andamios**

Los andamios o biomateriales brindan un espacio tridimensional para que las células formen tejido nuevo con la apropiada estructura y función, además permite la liberación de células y factores bioactivos apropiados, por ejemplo: péptidos de adhesión celular, factores de crecimiento, entre otros. (Koh y Atala, 2004).

Los biomateriales son herramientas básicas para esta ciencia, los cuales deben brindar biocompatibilidad (que no dan una reacción inflamatoria o inmunoreacción), biodegradabilidad y un diseño variable para asegurar una adecuada distribución celular, la formación de nueva matriz y la integración del tejido (Schultz, *et al.*, 2000).

La función primaria de un andamio es que permita la adhesión celular, migración sobre o dentro del andamio, la proliferación y la diferenciación celular además de mantener el fenotipo, la síntesis de moléculas, así como proteínas requeridas, además debe ser reproducible (Vats, *et al.*, 2003; Goessler, *et al.*, 2004; Ibarra, 2007). Estos andamios deben proveer una estructura temporal, en la cual las células que fueron sembradas sintetizan una matriz extracelular nueva que se integre con el tejido adyacente (Kuo, *et al.*, 2006; Kaihara y Vacanti, 1999).

#### **9.3.1.1. Características y tipos de andamios**

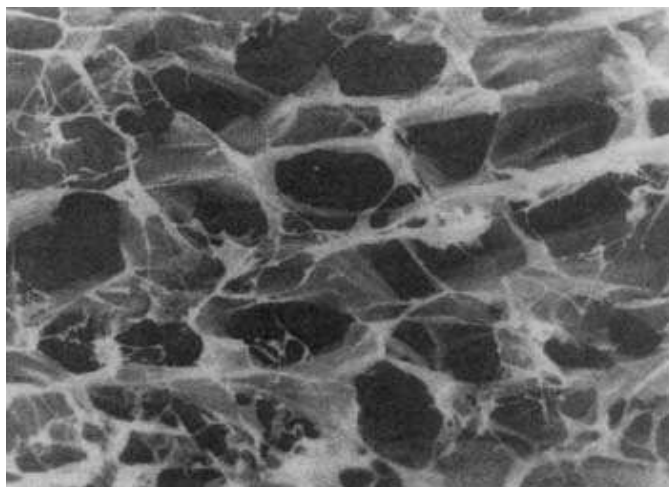
Dentro de las características requeridas para los andamios están: gran porosidad (ésta tiene dos funciones: la primera es que los canales porosos son orificios de entrada para la migración celular o capilaridad y la segunda es la disponibilidad de una gran área para las numerosas interacciones celulares), amplia área superficial, resistencia estructural, forma tridimensional específica, y biodegradabilidad si es necesario (Vats, *et al.*, 2003; Goessler, *et al.*, 2004).

La elaboración de los andamios depende de las propiedades del material y de la aplicación requerida. Pueden estar compuestos de polímeros, metales, o complejos. La selección del material es importante ya que deben igualar lo más que se pueda a las propiedades del tejido que se quiere reemplazar.

Los andamios que intentan reemplazar tejidos suaves como piel, tendón, ligamento, glándulas mamarias, vasos sanguíneos y válvulas cardíacas están compuestos de polímeros sintéticos y naturales. En el reemplazamiento de tejidos duros como hueso y dentina se usan metales, cerámicos, polímeros y complejos (Vats, *et al.*, 2003).

- ❖ Los materiales para los andamios se pueden dividir en :
  - Materiales naturales

Estos incluyen la colágena tipo I y II (fig. 22), glucosaminoglucanos (GAGs), quitosan, alginatos, fibrina, gelatina, agarosa, periostio, pericondrio, matriz de hueso desmineralizado, entre otros (Haasper, *et al.*, 2008). Las ventajas son baja toxicidad y baja respuesta inflamatoria, pueden ser degradados de forma natural por enzimas. Las desventajas son que presentan una fuerza mecánica pobre, fácilmente es desnaturalizado, debido a esto la manipulación es complicada y algunos requieren modificación química lo cual puede llevar a toxicidad (Vats, *et al.*, 2003).



**Figura 22.** Imagen estructural de un andamio natural de colágena (Vats, *et al.*, 2003).

Un estudio donde utilizaron andamios de colágena tipo II con varias combinaciones de densidad de las fibras entrecruzadas, para evaluar la densidad de los GAGs y el módulo de compresión de los condrocitos de cabra (Pfeiffer, *et al.*, 2008). Realizaron tinción de safranina O para determinar el contenido de GAGs y determinaron la colágena tipo II por medio inmunohistoquímica. Sus resultados mostraron diferencias significativas en el contenido de GAGs entre periodos de tiempo. Observaron que la densidad de fibras entrecruzadas de los andamios de colágena tipo II es determinante para la densidad de GAGs en los constructos sembrados con condrocitos, esto puede servir de base para determinar la densidad entrecruzada y el tiempo de cultivo que se requiera para producir constructos de un tamaño y de una densidad de GAG deseada para implantación; ya que los proteoglicanos son una parte importante del cartílago. Es esencial entender su dinámica para poder utilizarlos como ayuda en terapias para la regeneración del cartílago articular (Pfeiffer, *et al.*, 2008).

Otro estudio donde se utilizó un andamio de gel de colágena tipo I (Cellmatrix I-A) con un gradiente de concentración; a éste se le agregaron células madre mesenquimales (MSCs) para promover su agrupamiento en una región central de un defecto de cartílago en conejos. En el gradiente se observó que las MSCs prefieren las concentraciones de 33% y 50% de colágena en el gel; por lo que transplantaron en conejos geles con una concentración de 33% y 50% de colágena. Sus resultados mostraron una migración de las MSCs con un patrón de distribución a un gradiente de 33% de colágena, porque promueve el cambio secuencial de la distribución celular de la periferia hacia la región central reclutando las MSC, además en los análisis de inmunohistoquímica para la colágena tipo II fue positiva, con gran intensidad en la región periférica y central, mientras que la colágena tipo I fue muy débil su tinción en la región central. En el caso de la matriz extracelular evaluaron los glucosaminoglucanos por medio de la tinción de azul de toluidina mostrando una metacromasia intensa y uniforme. Por lo que este tejido regenerado es parecido al cartílago normal, ya que el gel de colágena exógeno recluta células para reparar defectos en el cartílago. Estos estudios de migración *in vitro* demuestran que las MSCs derivadas de la médula ósea se comportan como precursores móviles de la diferenciación condrogénica, así que Mimura y colaboradores observaron que *in vitro* e *in vivo* el cilindro de gradiente de 33% de colágena es óptimo para aumentar la regeneración de un defecto de cartílago (Mimura, *et al.*, 2008).

Otro material natural para elaborar andamios es la fibrina que es un biopolímero, y que se puede utilizar de tres formas diferentes. Una es como hidrogel ya que comparado con otros andamios tiene una mayor eficiencia en el sembrado, en una uniforme distribución celular y en su capacidad de adhesión; la segunda es de pegamento de fibrina que es un sellante o adhesivo de tejido ya que tiene la capacidad de promover hemostasis, de pegar tejido y constructos; por lo que acelera la curación de heridas, reduce la pérdida de sangre, protege contra infecciones; y la tercera es como de microgotas de fibrina (FMBs) que son pequeñas gotas esféricas densas con un diámetro de 50 a 250 micrones, están compuestas de fibrina condensada y entrecruzada, se han usado para aislar y crecer células madre mesenquimales de médula ósea y sangre. Por lo que sirve como un vehículo de liberación y andamio.

En el cartílago se ha usado la fibrina como andamio y adhesivo para aumentar la regeneración; se ha elaborado un producto natural llamado Genipin que es usado como hidrogel de fibrina entrecruzada, el cual muestra un aumento en las propiedades mecánicas e induce la diferenciación condrogénica de los condrocitos articulares de humano. También se han hecho diferentes mezclas con la fibrina como son: la de gel de fibrina con ácido hialurónico que brinda un ambiente favorable para mantener el fenotipo en los condrocitos y sintetizar MEC de cartílago en ratones; la mezcla de pegamento de fibrina con alginato que permite la proliferación celular y preservar las células diferenciadas para una estructura estable de la matriz; la mezcla de hidrogel de fibrina con colágena que permite una fijación estable del injerto; y la mezcla de pegamento de fibrina combinado con un tri-copolímero de gelatina, ácido hialurónico y condroitín-6-sulfato, éste promueve la secreción de MEC e inhibe su degradación *in vitro*. Con lo anterior se muestra que la fibrina tiene una gran maleabilidad y puede ser manipulada como gel, microgotas, pegamento y además puede mezclarse con otros compuestos. Por lo que puede utilizarse en la ingeniería de tejidos para la reparación del cartílago articular (Ahmed, *et al.*, 2008).

También se ha utilizado el andamio poroso de fibroina 3-D de seda derivado de un proceso acuoso; éste se cultivó con condrocitos de tejido articular normal de humano adulto (hCHs), que previamente fueron expandidos en cultivo de monocapa a alta densidad; para generar cartílago.

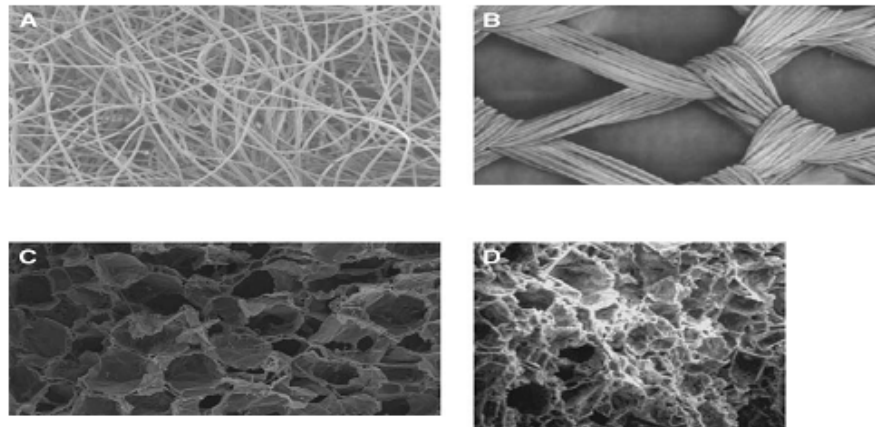
La seda existe naturalmente como una proteína fibrosa degradable con propiedades mecánicas únicas, además de una buena biocompatibilidad y procesabilidad para usarse como un andamio. Por lo que Wang y colaboradores en el 2006, desarrollaron un nuevo tipo de andamio altamente poroso controlando la estructura del poro, la morfología y las propiedades mecánicas, así que estos andamios parecidos a esponjas presentan una homogeneidad en la distribución del tamaño del poro, una superficie áspera, propiedades mecánicas y un control de la degradación. Sus resultados muestran que la unión celular con el andamio tardó tres horas y las células comenzaron a expandirse, por lo que los andamios brindaron un ambiente favorable para la proliferación celular, ya que no hay muerte celular significativa en los constructos después de tres semanas; además los condrocitos presentaron un fenotipo más redondeado. También observaron que los constructos presentaron una estructura de zonas con una delgada capa externa densa con células alargadas con morfología parecida a fibroblasto después hay una zona intermedia y además una gran zona interna con pequeñas células esféricas embebidas en un espacio parecido a una laguna dentro de una MEC abundante; mostraron mayor expresión de los genes de los componentes de la matriz extracelular de cartílago normal (Sox-9, AGC y Col II), la expresión de Col X fue baja por lo que no hay presencia de hipertrofia en los constructos. Con lo anterior este tipo de andamio brinda un buen ambiente y un soporte estructural para que los condrocitos humanos adultos (hCHs) proliferen y acumulen MEC específica de cartílago, además de dispersarse homogéneamente dentro del andamio, lo cual podría darle propiedades mecánicas estables y mejorar la integración del tejido después de la implantación *in vivo* por lo que este andamio de fibroina de seda 3-D derivado de un proceso acuoso puede ser también prometedor para tratamiento de reparación condral (Wang, *et al.*, 2006).

➤ Materiales sintéticos

▪ Polímeros

Los polímeros absorbibles son: el ácido poliglicólico (PGA), ácido poliláctico (PLA) y poliláctico-coglicólido (PLG) (fig. 23), estos se usan como redes y sutura; y el ácido polietileno o polipropileno (Schultz, *et al.*, 2000; Vats, *et al.*, 2003).





**Figura 24.** Imágenes de microscopía electrónica de andamios sintéticos; elaborados de polímeros absorbibles. (A) red de fibras de PGA no entrelazadas, (B) red de PLGA (ácido poliláctico-co-glicólico) entrelazada, (C) andamio de PLGA y (D) andamio de PLA (Rice, *et al.*, 2005).

Los polímeros no absorbibles son: politetrafluoroetileno (PTFE), nylon, polietileno tereftalato (PET), fosfato tricalcico ( $\beta$ -TCP), calcio deficiente de hidroxiapatita (CDHA), hidrogel-polivinilalcohol (PVA-H), entre otros (Haasper, *et al.*, 2008).

También existe una variedad de formas como: estructuras porosas, fibrosas, esponjas, redes entrelazadas y no entrelazadas e hidrogeles.

Se han realizado investigaciones *in vitro* e *in vivo*, con copolímeros porosos de polietilenglicol teraftalato:polibutileno teraftalato (PEGT:PBT) que son biodegradables y biocompatibles; ya que las propiedades del copolímero son determinadas por sus dos componentes: por parte del PEG su segmento hidrofílico que brinda propiedades elastoméricas parecidas a un hidrogel, mientras que el PBT brinda rigidez al sistema. Estos andamios porosos son formados por medio del proceso de templado de parafina (TP) donde la estructura del poro es redonda e irregular, además de exhibir una topografía microtexturizada; estos cultivaron con condrocitos de bovino. Sus resultados mostraron una distribución uniforme de las células, con forma redondeada y embebidas en una matriz fibrilar dentro de los poros del andamio; la tinción de safranina O fue positiva para los GAG, por medio de inmunofluorescencia demostraron la presencia de colágena tipo II, además observaron una distribución más uniforme. Debido a lo anterior indicaron que el potencial de los andamios PEGT:PBT producidos por el proceso de TP mantienen la condrogénesis *in vitro* (Mahmood, *et al.*, 2005).

Entre los andamios fibrosos están los siguientes: poli  $\alpha$ -hidroxi ésteres, ácido poli glicólico (PGA), ácido poliláctico (PLA), y su copolímero ácido poliláctico-co-glicólico (PLGA), estos últimos han demostrado que mantienen el fenotipo de los condrocitos y la producción de la MEC específica de cartílago. También están las nanofibras de poli  $\epsilon$ -caprolactona (PCL); y hay compuestos como PLA-alginato + quitosan-hialuronano (Kuo, *et al.*, 2006; Hendrich, *et al.*, 2003).

- Los hidrogeles

Son redes de polímeros entrelazados que tienen la capacidad de absorber grandes cantidades de agua. Hay geles de hialuronano, condroitín sulfato y polietilenglicol (PEG) (Kuo, *et al.*, 2006), también de gel de fibrina y alginato (Hendrich, *et al.*, 2003, Schultz, *et al.*, 2000), tienen un gran potencial de uso en la ingeniería de tejidos debido a su gran contenido de agua, su gran biocompatibilidad, sus propiedades mecánicas, sus propiedades de suavidad, su eficiencia de transporte de nutrientes y desechos, así como su capacidad de encapsular uniformemente las células. Además puede ser inyectado como líquido de gel *in situ*, pueden ser biodegradables o no, algunos se pueden obtener de la propia sangre del paciente y ser un andamio autólogo sin riesgo a un rechazo inmunológico (Ahmed, *et al.*, 2008). Se han realizado investigaciones con diferentes hidrogeles los cuales se mencionarán mas adelante.

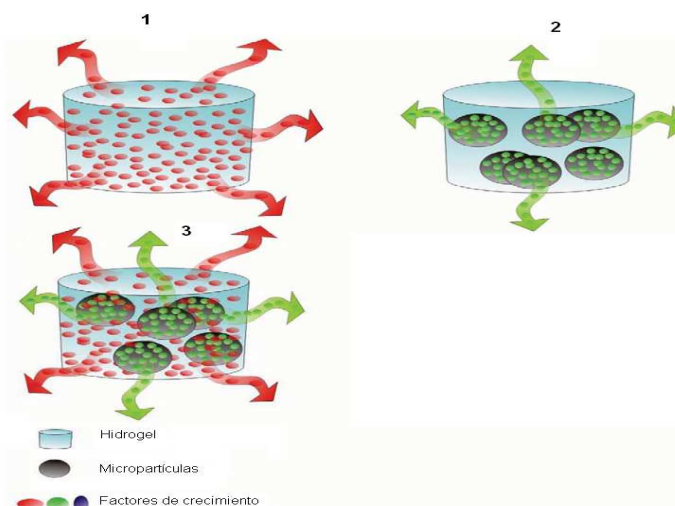


Figura 24. Esquema de hidrogeles con moléculas bioactivas como factores de crecimiento mostrando su liberación. (1) Liberación de un simple factor de crecimiento, (2) liberación de un factor de crecimiento contenido en micropartículas dentro de un hidrogel y (3) liberación de múltiples factores de crecimiento contenidas en micropartículas inmersas en un hidrogel.(Molly, *et al.*, 2008)

Se ha reportado el uso de hidrogeles biodegradables y biocompatibles, como el andamio de oligo polietilenglicol fumarato (OPF), que es un polímero sintético, soluble en agua que puede ser inyectado en defectos y puede ser entrecruzado *in situ*, además se le puede incorporar micropartículas de gelatina al mismo tiempo del entrecruzamiento, por lo que en este andamio OPF se pueden encapsular micropartículas (fig. 24) como factores de crecimiento, ya que está diseñado para dar una rápida liberación. Este estudio se basó en el papel que tienen dos factores de crecimiento: TGF- $\beta$ 1 y el IGF-1 en la reparación osteocondral de conejos adultos. Ya que el factor de crecimiento TGF- $\beta$  actúa como un morfógeno y quimiotáctico, además de que la liberación sostenida del factor de crecimiento IGF-1 actúa como un estimulador de la síntesis de la matriz extracelular. Holland y colaboradores en el 2005 usaron micropartículas de gelatina cargadas de IGF-1 y TGF- $\beta$ 1 colocadas en andamios de hidrogel OPF, fueron implantados en conejos por 12 semanas. Mostraron que hay una buena y total degradación del andamio así como de las micropartículas, observaron que el andamio adicionado con IGF-1 muestra mejores resultados para los cinco de los seis marcadores de la reparación de la neosuperficie (morfología de la superficie, grosor del cartílago, regularidad de la neosuperficie, agrupamiento del condrocito, contenido celular y contenido de proteoglicanos en la neosuperficie) además observaron que los condrocitos se arreglan en zonas, pero también se encontró con tejido fibroso (Holland, *et al.*, 2005).

Los hidrogeles en 3-D como el polímero de gelatina termorreversible (TGP) que es un copolímero compuesto de un polímero termosensible [poli(N-isopropilacrilamida-co-n-butyl metacrilato) (poli NIPAAm-co-BMA)] y un polímero hidrofílico [polietilenglicol (PEG)]. Este andamio (TGP) fue utilizado por Yasuda y colaboradores en el 2006 como vehículo para la liberación prolongada de factores de crecimiento, se cultivaron condrocitos de cartílago articular de bovino en el TGP en presencia o ausencia de factores de crecimiento para evaluar si funciona como un andamio celular para generar neocartílago *in vitro* y servir como un acarreador de factores de crecimiento.

Los geles TGP los mezclaron con factores de crecimiento IGF-1 (factor de crecimiento parecido a insulina) y TGF  $\beta$ 2 (factor de crecimiento transformante  $\beta$ 2), después agregaron los condrocitos aislados de las articulaciones de bovino, los guardaron por debajo de 7°C para mantener el estado líquido de los copolímeros, fueron tomados

con una jeringa para ser inyectados en tubos cilíndricos silastic para ser moldeados y se guardaron a más de 7°C para solidificar; ya listos los cilindros de condrocitos/hidrogel TGP se dejaron en medio de cultivo a 37°C y agitándose por 16 semanas. Realizaron pruebas histológicas de tinción de safranina O, H/E y Von Kossa. Sus resultados mostraron que la producción de la matriz es especialmente de GAG y en la inmunohistoquímica para la colágena tipo II observaron que está presente adyacentemente a los condrocitos; las pruebas bioquímicas mostraron un incremento en el contenido de GAG en función del tiempo en los constructos. Por lo que los factores inducen la producción de matriz al inicio pero se dan cambios debido a la disminución de los factores de crecimiento con el tiempo, además observaron que el TGF  $\beta$ 2 fue más lentamente liberado del gel TGP que el IGF-1 (Yasuda, *et al.*, 2006).

Estos andamios después de 16 semanas de cultivo estaban semitránslucidos, con una textura flexible pero no tan firme como el cartílago normal, y a pesar de que se mantuvieron a más de 7°C son capaces de conservar la forma 3-D, mostraron un estabilidad estructural ya que mantienen la forma, el volumen y se pueden conservar a 37°C por largos periodos de tiempo. Los condrocitos encapsulados por el líquido TGP mantuvieron su fenotipo redondeado resultado de la producción de matriz extracelular específica del cartílago. Por lo que el TGP es suficientemente permeable a los nutrientes para permitir la viabilidad y producción de una matriz extracelular, por lo que es buen vehículo liberador de factores de crecimiento por largo tiempo. Yasuda y colaboradores postulan que el mecanismo de acción probable es que el TGP retiene los factores de crecimiento en un sitio por la estructura 3-D sobre todo en la transición de la temperatura de sólido-gel, el poli NIPAAm-co-BMA hace entrecruzamientos finos termorreversibles entre moléculas por interacción hidrofóbica por lo que las macromoléculas hidrofílicas como los factores de crecimiento que son mezclados con el TGP frío se atrapan en una red fina del gel TGP y con su estructura homogénea podría permitir la difusión lenta.

Además de que el TGP no muestra citotoxicidad ya que es de material sintético y es libre de patógenos como virus o priones aunque no se sabe si tiene alguna reacción en experimentos *in vivo*, ya que no está aprobado por la FDA para uso humano pero puede ser un andamio prometedor para la reparación condral (Yasuda, *et al.*, 2006).

Otra combinación de hidrogeles con andamios porosos puede incrementar la retención de las células y brindar una matriz 3-D en la cual se puedan diferenciar, además de que pueden liberar factores de crecimiento. La fabricación de andamios 3-D de polipropileno fumarato (PPF) con poros definidos e interconexiones de los poros, son capaces de soportar carga, brindar un ambiente mecánico-protector para los hidrogeles y permiten la difusión de nutrientes para mantener el desarrollo del tejido. El ácido hialurónico (AH) es administrado por inyecciones interarticularmente pero su permanencia es solo de días, cuando se incorpora en hidrogeles puede incrementar el tiempo de permanencia *in vivo* y extender el periodo de sus propiedades condroprotectoras (Liao, *et al.*, 2007).

Liao y colaboradores en el 2007, combinaron un hidrogel compuesto de AH/Colágena I (el cual puede tener un efecto benéfico en la producción de la matriz extracelular y en la estabilidad fenotípica) con un andamio de polipropileno fumarato (PPF), el cual contiene poros geoméricamente diseñados en forma cúbica o elipsoidal. En los poros del andamio PPF, se inyectaron los condrocitos obtenidos de las articulaciones de cerdos, que estaban contenidos en el hidrogel AH/colágena I, los implantaron subcutáneamente en ratones inmunosuprimidos por 4 semanas. Los resultados mostraron un mayor depósito de glucosaminoglucanos, los condrocitos son redondos, llenan los espacios de los poros y son rodeados de una densa MEC, la cual dio positiva para la tinción de Safranina O y se detectó colágena tipo II. Esto confirma que el tejido es parecido a cartílago, por lo que la combinación del hidrogel de AH/Col I con el andamio PPF promueve la síntesis de proteoglucanos, teniendo un efecto condroprotector en los condrocitos e incrementa su estabilidad fenotípica, además en este ambiente las células son capaces de promover el movimiento celular, proliferación, agregación, degradación del AH y mediar la formación de matrices pericelulares. Ambas formas geométricas del poro (cúbica y elipsoidal) del andamio PPF fueron capaces de mantener el desarrollo del tejido cartilaginoso, por lo que esta combinación así como el diseño de la estructura puede ser muy útil para la elaboración de andamios por ingeniería de tejidos capaces de regenerar y mantener el cartílago (Liao, *et al.*, 2007).

Otro elemento importante para la reparación tisular mediante ingeniería de tejidos son las células, ya que de estas depende la generación de tejido, por lo que se mencionarán los tipos de células que se pueden utilizar así como de donde se obtienen.

### 9.3.2. Células

Las células utilizadas en la ingeniería de tejidos provienen de un tejido donado, la fuente de este tejido puede ser autólogo (células del propio paciente), alogénico (células de otro donador humano) o xenogénico (células de otras especies) (Rice, *et al.*, 2005; Koh y Atala, 2004). Por ejemplo Isogai y colaboradores en el 2006, utilizaron condrocitos de diferentes áreas del cuerpo de animales bovinos (células xenogénicas) como: el cartílago nasoseptal, articular, costal y auricular, las cuales compararon. Fueron cultivadas por 21 días y les realizaron análisis de histología. El cartílago nasoseptal y costal mostraron un índice mayor de proliferación, presentaron una metacromasia de azul de toluidina (es un indicador del contenido de matriz extracelular en cajas de cultivo) mas intensa, tuvieron una mayor expresión de colágena tipo II y agrecano, los condrocitos de la parte costal siguiéndole los de nasoseptal comparados con los demás. Después los cultivaron en un polímero poli (láctido- $\epsilon$ -caprolactona) biodegradable por 28 días, los implantaron en la parte dorsal debajo de la piel de ratones atímicos por 20 semanas y les realizaron análisis moleculares e histológicos. El neocartílago generado en 20 semanas de condrocitos de origen costal y nasoseptal mostraron mayor grosor, además en la tinción de safranina O, observaron una intensa reacción debido a la gran abundancia de proteoglucanos y presentaron un mayor nivel de expresión de agrecano y colágena II, comparado con los demás tipos. Así que los condrocitos tomados de diferentes tipos de cartílago y localización dentro del bovino en especial los de la parte costal y nasoseptal pueden ser potencialmente útiles para formar cartílago articular (Isogai, *et al.*, 2006).

Pero en la ingeniería de tejidos las células frecuentemente utilizadas son las autólogas ya que son del propio paciente, evitan rechazo y efectos secundarios por el uso de medicamentos inmunosupresores (Koh y Atala, 2004), se han realizado varios trabajos donde utilizan este tipo de células entre estos está el de Ochi y colaboradores que en el 2001 desarrollaron una nueva técnica para crear nuevo tejido parecido a cartílago donde utilizaron como andamio un gel de atelocolagena, ya que tiene una baja reacción

inflamatoria, lo han utilizado en cirugía plástica y dermatología. Usaron condrocitos humanos autólogos, los cuales fueron embebidos en la solución de atelocolagena y los cultivaron por 4 semanas. Sus resultados fueron que los condrocitos mantuvieron la morfología redondeada, en los análisis bioquímicos el contenido de condroitín sulfato fue alto aunque el número de células fue menor que el control, por lo que mostraron que los condrocitos proliferan y sintetizan matriz extracelular sin cambiar el fenotipo en el gel de atelocolagena por 4 semanas. Por lo que decidieron utilizar su constructo para reparar defectos de cartílago articular en rodillas de conejos, así que colocaron el constructo en el defecto (gel de atelocolagena y condrocitos) y lo analizaron a macroscópicamente e histológicamente. Los resultados obtenidos fueron que los defectos si se llenaron con tejido que parece cartílago hialino además de que se integro al cartílago adyacente normal, en los resultados de histología las células mostraron una morfología redonda y rodeadas con una matriz territorial, en los análisis inmunohistoquímicos se observó colágena tipo II con esto mostraron que el transplante de condrocitos embebidos en el gel de atelocolagena promovió la reparación del cartílago. Con los buenos resultados *in vitro* e *in vivo* en 1996, decidieron en el 2000 hacerlo en humanos con defectos osteocondrales en la rodilla, para esto observaron la forma, tamaño y localización del defecto, después tomaron tejido sano de áreas donde no hay carga, aislaron los condrocitos y los mezclaron con el medio de atelocolagena, para gelatinizar a 37°C de 3 a 4 semanas, posteriormente transplantaron el gel de atelocolagena en los defectos de las rodillas humanas. Sus resultados después de la cirugía fueron, reducción del dolor, de hinchamiento y de trabarse; un año después desapareció el dolor, el trabarse y observaron bajo artroscopía una superficie suave y firme parecida al cartílago hialino, estudios biomecánicos indicaron que la firmeza del injerto es casi similar al que lo rodea en el cartílago normal, estudios histológicos mostraron que las células son redondas y con matriz territorial, los análisis inmunohistoquímicos indicaron que los condrocitos implantados mantuvieron su fenotipo, ya que detectaron colágena tipo II, esto indicó que el tejido trasplantado después de una año es muy similar al cartílago normal por lo que sugirieron que esta técnica puede promover la restauración del cartílago. Aunque mencionaron que es necesario un estudio mas prolongado para evaluar la efectividad del procedimiento y del nuevo tejido (Ochi, *et al.*, 2001).

Haddo y colaboradores en el 2004, realizaron un estudio con el implante de condrocitos autólogos en pacientes, usando el condrogide que es una membrana de colágena tipo III/porcino I, la cual tiene una estructura de bicapa. Una capa es compacta, ya que tiene una superficie suave es una tapa celular, previene la difusión de las células inyectadas hacia el fluido sinovial, además las protege del impacto mecánico. La otra capa es porosa esta contiene fibras de colágena en un arreglo poroso indefinido que favorece la invasión celular y el anclaje; este arreglo de las fibras brinda una gran fuerza ténsil y la resistencia a romperse (Haddo, *et al.*, 2004).

Para el estudio observaron el sitio y tamaño del defecto, tomaron una pequeña biopsia de cartílago articular de una área de no carga, estas células se procesaron y cultivaron de 3 a 4 semanas, finalmente lo implantaron por artrotomía y se inyectaron las células. A un año de la cirugía examinaron los defectos por medio de artroscopía, tomaron una pequeña biopsia y la analizaron histológicamente por H/E y safranina O además realizaron inmunohistoquímica. Sus resultados fueron que el 3.1% mostró hipertrofia, el 71.9% muy buena integración y el 25.0% una pobre integración. En los análisis histológicos 51.5% mostró cartílago parecido al hialino, el 18.2% mostró una mezcla de cartílago hialino con fibrocartílago y solo 30.3% fue fibrocartílago; la membrana condrogide se absorbió completamente (Haddo, *et al.*, 2004).

Estos resultados mostraron una baja incidencia de hipertrofia un año después, por lo que el uso de la membrana condrogide tiene un resultado satisfactorio y no parece mostrar evidencia de hipertrofia en artroscopía aunque falta un estudio mas prologando (Haddo, *et al.*, 2004).

Las limitaciones para usar este tipo de células son la disponibilidad de las células ya que puede ser restringida, especialmente si el sitio de la biopsia esta severamente dañado, además la morbilidad que está asociada con el procedimiento de la biopsia, la capacidad para proliferar *in vitro*, la dificultad de obtener grandes cantidades y la desdiferenciación de los condrocitos hacia un tipo fibroblástico (Hendrich et al. 2003;(Koh y Atala, 2004; Rice, *et al.*, 2005).



Además de las células autólogas existe otra alternativa que es el uso de células madre multipotenciales o precursoras.

Las células madre mesenquimales autólogas (MSCs) de la médula ósea, son fáciles de obtener, el procedimiento es menos invasivo, son autólogas, tienen la capacidad para la expansión ilimitada pero controlada y tiene el potencial de diferenciarse en varios tejidos mesenquimales como hueso, cartílago, músculo y adiposo dependiendo del microambiente y de los factores de crecimiento (Hendrich *et al.*, 2003; Kuo, *et al.*, 2006; Rice, *et al.*, 2005). También las células madre mesenquimales se han aislado de tejido conectivo de muchos órganos sugiriendo que tienen un papel como reservorio y banco de regeneración para varios tejidos mesenquimales (Schultz, *et al.*, 2000).

Kafienah y colaboradores en el 2007, realizaron un trabajo donde utilizan células madre mesenquimales derivadas de la médula ósea (BMSCs) de pacientes con osteoartritis que son multipotenciales, capaces de diferenciarse en linajes adipogénico, condrogénico y osteogénico, para su probable uso en la generación de cartílago hialino tridimensional por medio de la ingeniería de tejidos usaron un andamio de ácido poliglicólico. Las muestras fueron tomadas de la articulación de cadera de 23 pacientes con OA entre 42 y 92 años, las cuales se sembraron en pellets de micromasa. Realizarán cultivos en pellets de micromasa en tubos de propileno mantenidos en cultivo por 21 días, después a estas células las sembraron en andamios de ácido poliglicólico en forma de disco y los mantuvieron en medio de cultivo por 35 días; posteriormente hicieron análisis histológicos, inmunohistoquímicos y bioquímicos.

Sus resultados mostraron que fueron capaces de generar un tejido blanco y brillante muy semejante al cartílago hialino, por qué los análisis histológicos e inmunohistoquímicos demostraron que el tejido presentó una matriz extracelular semejante al tejido normal, ya que observaron que la presencia de proteoglucanos y colágena tipo II fueron predominantes y la colágena tipo I fue escasa, además en los análisis bioquímicos usaron una menor cantidad de células comparado con el cultivo de “pellets” en micromasa y la cuantificación de los componentes de la matriz extracelular en peso seco fue cinco veces mayor, esto comparado con el cultivo de “pellet”. Se presentó expresión de colágena X,<sup>1</sup> lo que indicó que se genera cartílago hipertrófico por lo que investigaron el potencial del

PTHrP que evita la maduración de los condrocitos prehipertróficos en la placa de crecimiento, en este caso cuando agregaron PTHrP observaron una disminución de la expresión de la colágena X y se redujo el contenido de fosfatasa alcalina pero no tiene algún efecto con la colágena II y los proteoglicanos. Debido a lo anterior este tipo de células pueden ser utilizadas para generar implantes con tejido parecido al cartílago (Kafienah, *et al.*, 2007).

También se han utilizado células mesenquimales de médula ósea obtenidas de pacientes con OA para reparar tejido dañado por osteoartritis por ejemplo:

Wakitani y colaboradores en el 2002, realizaron una investigación en pacientes con osteoartritis utilizando los principios de ingeniería de tejidos. Ellos usaron células mesenquimales de médula ósea para reparar defectos de cartílago articular de rodillas de 24 pacientes, que padecían OA, con una edad promedio de 63 años (rango 49-70), la OA fue diagnosticada de acuerdo a la clasificación de "Attman, *et al.*, (1986)" de evaluaciones radiográficas y antes de la cirugía todos los pacientes midieron su dolor, función, rango de movimiento, fuerza muscular, deformidad de flexión e inestabilidad, usando una escala de valoración. A los pacientes con OA los dividieron al azar en dos grupos: 12 recibieron el trasplante de células mesenquimales autólogas de médula ósea, las cuales se obtuvieron de la sangre o médula que fue aspirada de la cresta iliaca y las cultivaron por 20 días y un día antes de la cirugía fueron embebidas en Cellmatrix tipo IA (colágena tipo I de tendón de porcino), a éste compuesto célula-gel lo cultivaron toda la noche y después lo colocaron en el área debridada, con la capa de colágena cubriendo el lado superior, además pusieron sobre las células periostio autólogo con la capa de cambio de frente, que fue tomado de la tibia proximal y suturado sobre el cartílago y/o hueso restante. El otro grupo de 12 fueron los controles, sin células a los cuales les realizaron esponjialización (exposición de hueso), implantaron la capa de colágena-gel y cubrieron con periostio. A los pacientes se les realizó varias cirugías y se les monitoreo el tejido transplantado por medio de artroscopia y análisis histológicos con la tinción de azul de toluidina. Sus resultados en la primera observación (4-10 semanas) después del trasplante, para el grupo con células transplantadas, fue que sus defectos se habían llenado con un tejido rosa a blanco opaco y suave parecido al cartílago normal, en la parte histológica una pequeña área mostraba una metacromasia fuerte lo que indicó la presencia de

glucosaminoglucanos y para la segunda observación (28-95 semanas) los defectos estaban cubiertos de un tejido blanco un poco mas duro que la vez anterior pero aun suave, no se encontró periostio y en los análisis histológicos todas las áreas del tejido muestreado presentó metacromasia y en algunas partes se observó tejido parecido al cartílago hialino.

Mientras que en el grupo control o sin células en la matriz, observaron que se cubrió parcialmente por tejido rojo a amarillo con poca metacromasia y para la segunda observación (28-95 semanas) no se observó periostio y el defecto fue cubierto con un material blanco con una superficie irregular y en la histología mostró una débil metacromasia. Por lo que el grupo transplantado con células obtuvo mejores resultados que el grupo control tanto en la primera como en la segunda revisión, así que demostraron que el gel de colágena provisto de condrocitos en un ambiente adecuado, pueden sintetizar macromoléculas de matriz para ayudar a la fijación de las células dentro del defecto y esperan que el cartílago regenerado pueda tener mejores resultados a largo plazo y reducir la necesidad de un reemplazamiento total de la articulación. (Wakitani, *et al.*, 2002).

Otro estudio realizado a 23 personas que padecían OA de rodilla, se les implantó un andamio de ácido hialurónico (Hialograft C) con condrocitos autólogos, los cuales los obtuvieron de un área sin carga, los expandieron en cultivo y los sembraron en el andamio Hialograft C; al constructo lo cultivaron por 14 días y lo implantaron por artrotomía; realizaron una segunda revisión al año y cuatro meses, en la cual tomaron una biopsia y la analizaron por medio de análisis histológicos (tinción de hematoxilina y eosina), así como bioquímicos para colágena tipo I, tipo II, proteoglucanos y el entrecruzamiento de la colágena. Sus resultados fueron que 10 de los 23 pacientes mostraron una organización celular parecida a la normal en columnas, en grupos y alineados perpendicularmente a la superficie articular, además en el microscopio de luz polarizada observaron que la organización de las fibrillas de colágena era parecido al cartílago hialino. En los resultados del peso húmedo y seco para la colágena tipo I, tipo II, proteoglucanos, así como en el radio de entrecruzamiento de la colágena madura e inmadura (para ellos es una evidencia indirecta de la reparación funcional ya que esta relacionado con la fuerza ténsil) mostraron que el tejido fue similar a cartílago hialino ya que no encontraron diferencias significativas,

además observaron que este tejido reparado obtuvo mejores resultados en las rodillas osteoartrosis que en las que no la padecían; los trece restantes mostraron una organización celular anormal y una mezcla de fibrocartilago con cartilago normal, observaron que sus fibrillas de colágeno esta distribuida al azar, mientras que los resultados del peso húmedo y seco fue alto para la colágeno tipo I, menor para la colágeno tipo II y para el contenido de proteoglicanos y el radio de entrecruzamiento de la colágeno madura e inmadura es bajo, esto semejan al fibrocartilago (Hollander, *et al.*, 2006).

Concluyen que el tejido formado era similar al cartilago hialino a pesar de que fue implantado en rodillas osteoartrosis, por lo que las células introducidas en el Hialograft C aumenta el anabolismo dando como resultado la formación de cartilago, pero aun se debe realizar un estudio a largo plazo para ver si el cartilago implantado sigue con las mismas características y no degenera (Hollander, *et al.*, 2006).

Un estudio donde células estromales de medula ósea (BMSCs) que son una mezcla heterogénea de células fibroblásticas, la cual contiene poblaciones de células progenitoras y células madre mesenquimales. Las utilizaron para observar la producción y el procesamiento de los proteoglicanos en constructos por ingeniería de tejidos. Las BMSC las obtuvieron de becerro, fueron cultivadas en geles de agarosa por 32 días con TGF- $\beta$ 1, las cuales se compararon con células de cartilago articular (CA) tomadas de cóndilos de becerro, mantenidas bajo las mismas condiciones y suplementados con inhibidor de agreganasa y metaloproteinasa, se realizaron análisis de inmunofluorescencia para los proteoglicanos, agregano, versicano, fibronectina y colágeno tipo II; para la histología usaron la tinción de safranina O. Investigaron el papel de las enzimas proteolíticas en los constructos por medio de los efectos de los inhibidores de la agreganasa y metaloproteinasa en la acumulación de proteoglicanos, en el procesamiento del agregano y en la mecánica del constructo. Los resultados histológicos demostraron que producen una matriz rica en proteoglicanos, además la inmunofluorescencia fue positiva para agregano y colágeno II por lo que se obtuvieron altos niveles de estas proteínas en la parte pericelular de los constructos, con esto demostraron que las BMSCs y las CA produjeron una matriz extracelular parecida a la del cartilago compuesta de agregano y colágeno II cuando se cultivó con TGF- $\beta$ 1, aunque mostraron que los constructos con CA

acumularon mas matriz y su distribución fue mas uniforme que los de las BMSC. Se obtuvo que los inhibidores no afecta la acumulación de la cantidad de GAGs (Connelly, *et al.*, 2008).

Existe otro tipo de células, son las células madre embrionarias presentes en la masa celular interna del embrión en estado de blastocisto, son células pluripotentes (es la capacidad de diferenciarse en múltiples tejidos). Éstas también se pueden utilizar en la ingeniería de tejidos aunque su obtención es mas difícil (Kuo, *et al.*, 2006), una de las desventajas es la potencial formación de teratomas en las articulaciones (Haasper, *et al.*, 2008).

Con lo anterior se puede decir que el cambio del tejido local y la actividad de reparación involucra cuatro pasos: el primero es la quimioatracción de las células de sitios residentes como la membrana sinovial o de reservorios distantes; segundo, la condensación de células vía sobrerregulación de moléculas esenciales de adhesión celular; tercero, la proliferación local y cuarto, la diferenciación subsecuente. La dirección y manejo de estos procesos pueden estar controlados por moléculas bioactivas entre las cuales se encuentran factores de crecimiento, citocinas, moléculas de adhesión celular y quimiocinas; el uso de andamios guían este proceso temporalmente y espacialmente (Schultz, *et al.*, 2000).

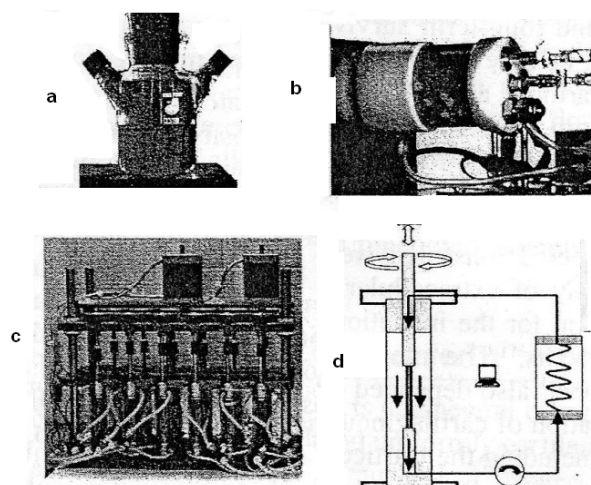
Como podemos ver se puede utilizar una variedad de células para generar tejido aunque va a depender de lo que se requiera para la investigación y de la disponibilidad de las células que se tenga, una parte importante en la que las células puedan tener su mejor rendimiento es el ambiente en el que se encuentren y en la ingeniería de tejidos una parte crucial es el andamio como ya se mencionó. Pero una opción mas es usar biorreactores.

### **9.3.3. Biorreactores**

Son ambientes especializados diseñados para mantener espacialmente uniforme las concentraciones de células dentro de los andamios; en los cuales se pueden controlar las condiciones como: temperatura, pH, osmolaridad, niveles de oxígeno, nutrientes,

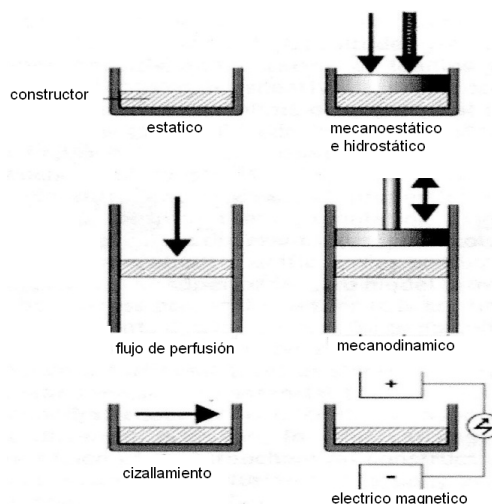
metabolitos y moléculas reguladoras en el medio de cultivo; facilitar la transferencia de masa entre las células y el medio de cultivo; brindar fisiológicamente señales físicas como el flujo de fluido intersticial, fuerza de cizallamiento, presión y compresión mecánica. Ya que deben brindar un ambiente ventajoso para la creación del producto deseado; las fuerzas básicas pueden aplicarse en sistemas estáticos (gravedad), hidrostáticos (presión de fluido continuo) y mecanoestáticos (presión continua sobre un nivel); las fuerzas dinámicas son aplicadas por vía de flujo de fluido, fuerza de cizallamiento y un campo eléctrico o motor que maneje el dispositivo. Con estos tipos de estímulos se puede modular el metabolismo del cartílago y si se aplica una mezcla con magnitudes y frecuencias específicas se puede sobrerregular la producción de los componentes de la MEC (Haasper, *et al.*, 2008).

Los biorreactores mas usados en la ingeniería de tejidos del cartílago son: frascos giratorios, vasos rotadores y cámaras de perfusión (fig. 25) con el flujo del medio que esta alrededor o a través del constructo (Einhorn, *et al.*, 2007).



**Figura 25.** Ilustración de biorreactores usados en la ingeniería de tejidos, como son: (a) frascos estáticos o con un agitador magnético, (b) vasos rotadores y con flujo laminar dinámico (c) vasos de perfusión con estimulación mecánica (d) flujo intersticial del medio de cultivo (Hendrich *et al.*, 2003).

Para la formación de cartílago por medio de la ingeniería de tejidos ha sido útil la aplicación de fuerzas hidrostáticas en sistemas hidrodinámicos de biorreactores con rotación. (fig. 26) Haasper y colaboradores desarrollaron un sistema en el cual la perfusión y la tensión mecánica fue transferida con diferentes frecuencias sobre el constructo (Haasper, *et al.*, 2008).



**Figura 26.** Esquema de diferentes protocolos de aplicación de tensión a constructos con andamios, como: tensión estática, tensión mecanoestática e hidrostática, flujo de perfusión, mecanodinámica y aplicación eléctrica/magnética (Haasper, *et al.*, 2008).

En un estudio donde utilizaron un biorreactor de vaso rotador de mayor orientación (HARV), estimularon la condrogénesis, basado en su eficiente propiedad de transferencia de masas y la estimulación hidrodinámica, para mostrar la condrogénesis de condrocitos articulares de humanos sin usar algún andamio. Usaron cartílago articular de pacientes de 76 a 98 años los cuales se cultivaron por 90 días bajo condiciones de flujo laminar dinámico con poca fuerza de cizallamiento, encontraron que se formaron pequeños agregados de tejido, a los cuales les realizaron análisis histológicos y de inmunohistoquímica para colágena tipo I, colágena tipo II, proteoglucanos y vimentina. En sus resultados mostraron que los constructos presentan una capsula externa parecida al pericondrio, en la matriz presentaron condrocitos y condroblastos en proceso de diferenciación y en grupos. Predominó la colágena tipo II, los proteoglucanos en las regiones cartilaginosas mientras que la parte fibrosa parecida al pericondrio predominó la colágena tipo I. El modelo de cultivo que usaron fue capaz de desarrollar tejido con características histológicas significantes parecidas a las del cartílago normal, gracias a que el biorreactor rotador (HARV) brindo bajas fuerzas de cizallamiento, redujo el riesgo del daño celular e incrementó la interacción célula-célula. Debido a esto, las células se unen unas con otras, rediferenciándose y produciendo matriz extracelular con contenido de glucosaminoglucanos y colágena tipo II por 12 semanas, también simuló aspectos de la condrogénesis *in vivo* en este modelo la condrogénesis comenzó en el centro de los constructos y progreso hacia la superficie, además presentó una actividad en la síntesis y

secreción de la matriz extracelular, aunque la arquitectura típica del cartílago articular con las zonas superficial, transicional, profunda y calcificada no se observaron. Por lo que este modelo puede servir para estudiar el metabolismo y entender el proceso de la degradación de la matriz durante el envejecimiento y la osteoartritis (Marlovits, *et al.*, 2003).

Debido a que la estimulación mecánica compresiva es un factor importante para la formación del cartílago articular, es necesario el desarrollo de un biorreactor mecano-activo en el cual se optimice la duración y magnitud de la estimulación mecánica para liberar señales mecánicas que induzcan a las células a adherirse a los andamios, durante la aplicación de un esfuerzo mecánico (Jung, *et al.*, 2008).

En el estudio de Jung y colaboradores (2008) demostraron que la aplicación periódica de compresión dinámica puede fomentar a los condrocitos a mantener su fenotipo y aumentar la producción de GAGs, los cuales pueden mejorar la calidad del tejido cartilaginoso formado *in vitro* e *in vivo*.

Con el biorreactor de compresión evaluaron los efectos de la compresión dinámica en los constructos cartilaginosos; utilizaron condrocitos de cartílago articular de conejo, los cuales fueron sembrados en andamios tridimensionales de poli L-láctido-co- $\epsilon$ -caprolactona (PLCL), éstos son elásticos, biodegradables y son capaces de liberar señales mecánicas durante el cultivo celular. Después fueron colocados en un sistema de bioreactor de compresión dinámica (el cual es capaz de controlar la tensión y la frecuencia) donde se les aplicó a los constructos célula-polímero una compresión continua de deformación de 5% de esfuerzo a 0.1 Hz por 24 días, después de este tiempo fueron implantados en la parte dorsal subcutánea de ratones atímicos por 8 semanas. Los resultados obtenidos por la estimulación de la compresión mecánica fueron que la interacción celular estuvo mejor organizada e incremento la formación de tejido, además muestran un aumento en el contenido de GAGs y colágena tipo II (Jung, *et al.*, 2008).

En el caso del estudio *in vivo* los resultados mostraron mayor cantidad de GAGs, en los análisis histológicos observaron que se formó tejido maduro y bien desarrollado muy similar al tejido nativo, la tinción tricrómica de Masson, mostró acumulaciones abundantes de colágena, la tinción azul alciano y safranina O, indicaron que los glucosaminoglucanos



están distribuidos homogéneamente. Lo cual indicó que la matriz extracelular es producida por condrocitos diferenciados en el nuevo tejido formado, la inmunofluorescencia mostró que los condrocitos están rodeados de colágena tipo II, en los análisis de RT-PCR mostraron una sobrerregulación de los ARNm de agregano y colágena tipo II. Aunque también reportaron que la estimulación mecánica excesiva puede llevar a una progresiva transformación del cartílago causando hipertrofia de los condrocitos (Jung, *et al.*, 2008).

#### **9.4. Ventajas y desventajas de la aplicación de la ingeniería de tejidos para la reparación del cartílago articular.**

Por medio de la ingeniería de tejidos se ha mostrado que es posible obtener tejido si se mezclan células con un andamio, con o sin factores de crecimiento y mantener ciertas condiciones para que pueda crecer y mantenerse, por lo que puede servir como un alternativa, ya que se pueden reparar defectos preferentemente en personas que no padezcan alguna enfermedad autoinmune.

Además existe una gran variedad de células y de andamios que se pueden utilizar de diferente forma para poder generar un tejido; esto depende de las necesidades, ya que se puede controlar la forma, la tasa de degradación del polímero, el tamaño, la textura, entre otros.

Las desventajas son que todavía no se tiene un constructo que sea capaz de integrarse totalmente, mantenerse y que permita que las células proliferen para que puedan reparar un área extensa de daño articular como ocurre en las articulaciones afectadas por la OA.

Esto puede deberse a que aún falta investigar todavía más la función de algunos factores de crecimiento, así como de algunas proteínas de unión extracelular que permitan la comunicación entre las células y entre su matriz extracelular, además de contar con un buen protocolo para mantener el fenotipo condral por largos periodos y que no se desdiferencie. En la literatura reportada se menciona el intento porque el andamio y las células que se utilizaron mantengan su fenotipo como condrocitos y a su vez produzcan y mantengan una matriz extracelular semejante a la del cartílago articular. Algunos autores

como: Mimura, Kafienah y Wang utilizaron andamios naturales de colágena tipo I, tipo II y de fibroina, éste último andamio reveló que mantuvo el fenotipo de las células, así como una matriz extracelular parecida a la del cartílago hialino. Pero Mahmood, Holland, Yasuda, Liao, entre otros investigadores, usaron andamios sintéticos, ya sean simples o combinados con algún hidrogel o con algún andamio natural como la colágena I o colágena II, así como con otros andamios sintéticos. Entre estos trabajos, el de Liao mostró que la forma en que combinaron su andamio PPF con el hidrogel de AH/Col I, se obtiene un mayor depósito de GAGs en la matriz, así como la integración de las células en los andamios, ya que mantuvieron el fenotipo de los condrocitos, por lo que con ésta combinación se obtienen buenos resultados. Por otro lado, Wakitani y Hollander utilizaron células de pacientes con OA cultivadas en andamios, el constructo formado lo implantaron en defectos de rodillas osteoartísticas, obteniendo resultados contundentes, a pesar de que el tejido adyacente estaba dañado por la OA.

En la literatura citada, Isogai da una alternativa para utilizar células de origen cartilaginoso, pero ubicado en otra estructura del cuerpo de animales bovinos, como: el cartílago costal, nasoseptal, auricular y articular; con el fin de mostrar que estas células son capaces de formar cartílago articular, siendo las células de localización costal las más prometedoras. Por otro lado Marlovits, en su investigación obtuvo pequeños agregados de tejido parecidos a cartílago articular, para el cual utilizó un biorreactor de flujo laminar dinámico con poca fuerza de cizallamiento, sin usar un andamio, ya que sólo cultivo los condrocitos en éste biorreactor, la alternativa que brinda es el uso de biorreactores para formar tejido cartilaginoso sin necesidad de usar andamios.

Pero a pesar de estos buenos resultados citados en la literatura se encontraron trabajos como el de Ochi y Haddo, en los cuales mencionan que tienen buenos resultados con sus andamios, pero no muestran los análisis que realizaron.

## **10. IMPACTO DE LA INGENIERÍA DE TEJIDOS EN LA REPARACIÓN DEL CARTÍLAGO ARTICULAR**

En esta revisión podemos ver que se han llevado a cabo diferentes investigaciones con el mismo objetivo; la reparación del cartílago articular, se han considerado una gran variedad de tipos celulares, así como de andamios naturales y artificiales, también algunos biorreactores. Los resultados obtenidos son que se forma tejido semejante al cartilaginoso y en algunos estudios llevados en humanos han mostrado una buena integración del tejido y hasta han desaparecido síntomas clínicos en los pacientes, aunque en la mayoría de los estudios indican que se debe realizar a un mayor largo plazo del que ellos lo realizaron para descartar la formación de fibrocartílago. Así que la ingeniería de tejidos es una alternativa prometedora para la reparación del cartílago articular, ya que tiene mejores avances que otros métodos de reparación de cartílago como son: la microfractura en la cual no se han realizado estudios con pacientes con OA y la mosaicoplastia (Mobasher, *et al.*, 2009). Esperamos que en un futuro se encuentre el protocolo que regenere el cartílago articular formando la arquitectura característica del cartílago hialino.

En el caso de las articulaciones afectadas por la osteoartritis sólo se ha tenido éxito en su reparación cuando es implantado cartílago tridimensional, pero a pesar de estos resultados alentadores son muy pocos los trabajos realizados para reparar el cartílago dañado por OA.

## 11. CONCLUSIÓN

En este trabajo se muestra algunos de los muchos experimentos que se han desarrollado en la ingeniería de tejidos para poder formar tejido cartilaginoso a partir de diferentes tipos de células como son las células cartilaginosas autólogas, las células madre mesenquimales, de médula ósea y embrionarias, así como una gran variedad de andamios artificiales y naturales con diferentes características. Aunque aún no se tiene con certeza cuales combinaciones son las mejores. En la literatura revisada yo considero que entre los andamios naturales, sintéticos y combinaciones, los andamios combinados con hidrogeles, son los que tienen un mejor potencial para la formación del cartílago debido a sus características: de absorber grandes cantidades de agua, de encapsular las células, son eficientes en transportar nutrientes y desechos, por lo que asemeja algunas de las condiciones que presenta el cartílago articular, asimismo tiene una variabilidad en como diseñarse y combinarse con andamios naturales y sintéticos, así como con factores de crecimiento. También el uso de biorreactores es una alternativa para formar pequeños agregados de cartílago sin usar andamios, además cabe mencionar que las células obtenidas de cartílago costal pueden ser útiles para la formación de constructos en lugar de usar células de cartílago articular obtenidas directamente de la articulación.

En la ingeniería de tejidos se trabaja en como reparar el daño en el cartílago articular, con el enfoque a futuro de poder repararlo cuando sufre de OA, ya que personas de más de cuarenta años, así como personas mas jóvenes debido a sus actividades, pueden padecer esta enfermedad, la OA, que es un padecimiento degenerativo que afecta las articulaciones especialmente las rodillas y puede llegar hasta la incapacidad para caminar, por lo que es un problema de salud que afecta la economía de los países.

Como se mencionó el cartílago es un tejido difícil de reparar debido a sus características por lo que se han planteado formas de repararlo, pero se complica debido a que los condrocitos se desdiferencian, no se integra el nuevo tejido con el dañado, o se genera fibrocartílago.

Para poder generar un tejido parecido al cartílago articular normal con sus propiedades bioquímicas y biomecánicas, se debe entender la embriogénesis del cartílago

y la participación de los factores de crecimiento, así como la interacción de su matriz extracelular y a su vez la dinámica como tejido. Por lo que se necesitan mas estudios de cómo se forma el tejido y como se degenera para saber que factores participan en estos dos procesos, para poder generar la mejor metodología tomando en cuenta las mejores condiciones, así como la modulación de factores de crecimiento, la interacción con proteínas de la matriz extracelular, además de proteínas que participan en el anabolismo y catabolismo del cartílago articular.

## 12. BIBLIOGRAFIA

1. Simon, T. M. y Jackson D. W. (2006). "Articular cartilage: injury pathways and treatment options." *Sports Med Arthrosc* **14**(3): 146-54.
2. Fawcett, D. W., (1987). *Tratado de histología*. 11ª edición. Editorial Interamericana – Mc Graw-Hill. España.
3. Shum L, y Nuekolls G. H. (2002). "The life cycle of chondrocytes in the developing skeleton." *Arthritis Res* **4**(2): 94-106.
4. Pearle, A. D.; Warren, R. F. y Rodeo, S., (2005). "Basic science of articular cartilage and osteoarthritis." *Clin Sports Med* **24**(1): 1-12.
5. Ham, Arthur y Cormarck, David, (1983). *Tratado de histología*. 8ª edición. Editorial Interamericana. México, D. F.
6. Isogai, N., Kusuhara, H., Ikada, Y., Ohtani, H., Jacquet, R., Hillyer, J., Lowder, E. y Londis, W. (2006). "Comparison of different chondrocytes for use in tissue engineering of cartilage model structures." *Tissue Eng* **12**(4): 691-703.
7. Gardner, E., Gray, D. y O'Rahilly. (1974). "Anatomía." 2º edición. Editorial Salvat Editores. Barcelona.
8. Reddi, A. H. (2003). "Cartilage morphogenetic proteins: role in joint development, homeostasis, and regeneration." *Ann Rheum Dis* **62**: 73-78.
9. Poole, C. A. (1997). "Articular cartilage chondrons: form, function and failure." *J Anat* **191** (Pt 1): 1-13.
10. Sopena, J., Carrillo, P., Rubio, Z., Redondo, G., Serra, A. y Saler, C. (2003). "Estructura y función del cartílago articular." *Argos*. 52.
11. Vega, J. A., García, O., Fernández, D. y Del Valle, M. E. (2002). "Bioquímica y biología del cartílago articular" *Rev Ortop Traumatol* **5**:391-400.
12. Latridis [http://www.emba.uvm.edu/~latridis/me301/cartilage\\_intro.pdf](http://www.emba.uvm.edu/~latridis/me301/cartilage_intro.pdf).
13. Einhorn, T., Buckwalter, J. y O'Keefe, R. (2007). "Orthopaedic Basic science: Foundations of clinical practice." 3a edition. U.S.A.
14. Ferdous, Z. y Grande-Allen, K. J. (2007). "Utility and control of proteoglycans in tissue engineering." *Tissue Eng* **13**(8): 1893-904.
15. Gennesser, F. (2000). "Histología." 3ª edición. Editorial Panamericana. España.

16. Murphy, J. M., Heinegard, D., McIntosh, A., Sterchi, D. y Barry, F. P. (1999). "Distribution of cartilage molecules in the developing mouse joint." *Matrix Biol* **18**(5): 487-97.
17. Goldring, M. B., Tsuchimochi, K. y Ijiri, K. (2006). "The control of chondrogenesis." *J Cell Biochem* **97**(1): 33-44.
18. Docheva, D., Popov, C., Mutschker, W. y Schieker, M. (2007). "Human mesenchymal stem cells in contact with their environment: surface characteristics and the integrin system." *J Cell Mol Med* **11**(1): 21-38.
19. Aszodi, A., Hunziker, E., Brakebush, C. y Fässler, R. (2003). "Beta1 integrins regulate chondrocyte rotation, G1 progression, and cytokinesis." *Genes Dev* **17**(19): 2465-79.
20. Humphries, J., Byron, A. y Humphries, M. (2006). "Integrin ligands at a glance." *J Cell Sci* **119**(Pt 19): 3901-3.
21. Kim, S. J., Kim, E. J., Kim, Y. H., Hahn, S. B. y Lee, J. W. (2003). "The modulation of integrin expression by the extracellular matrix in articular chondrocytes." *Yonsei Med J* **44**(3): 493-501.
22. Qin, J., Vinogradova, O. y Plow, E. (2004). "Integrin bidirectional signaling: a molecular view." *PLoS Biol* **2**(6): e169.
23. Mobasheri, A., Carter, D., Martin-Vasallo, P. y Shakibaei, M. (2009). "Mesenchymal stem cells in connective tissue engineering and regenerative medicine: applications in cartilage repair and osteoarthritis therapy." *Histol Histopathol* **24**(3): 347-66.
24. Bökel, C. y Brown, N. H. (2002). "Integrins in development: moving on, responding to, and sticking to the extracellular matrix." *Dev Cell* **3**(3): 311-21.
25. Millward-Sadler, S. J. y Salter, D. M. (2004). "Integrin-dependent signal cascades in chondrocyte mechanotransduction." *Ann Biomed Eng* **32**(3): 435-46.
26. Goessler, U. R., Hörmann, K. y Riedel, F. (2004). "Tissue engineering with chondrocytes and function of the extracellular matrix (Review)." *Int J Mol Med* **13**(4): 505-13.
27. Hirsch, M. S., Lunsford, L., Trinkaus-Randall, V. y Svoboda, K. (1997). "Chondrocyte survival and differentiation in situ are integrin mediated." *Dev Dyn* **210**(3): 249-63.
28. Kurtis, M. S., Tu, B. P., Gaya, O. A., Mollenhauer, J., Knudson, W., Loeser, R. F., Knudson, C. B. y Sah, R. L. (2001). "Mechanisms of chondrocyte adhesion to cartilage: role of beta1-integrins, CD44, and annexin V." *J Orthop Res* **19**(6): 1122-30.

29. Van der Kraan, P. M., Buma, P., Van Kuppevelt, T. y Van den Berg, B. (2002). "Interaction of chondrocytes, extracellular matrix and growth factors: relevance for articular cartilage tissue engineering." *Osteoarthritis Cartilage* **10**(8): 631-7.
30. Lucena, S. Arocha, C. y Guerrero, B. (2007). "Fibronectina: Estructura y funciones asociadas a la hemostasia. Revisión." *Invest. Clin.* **48**(2): 249-262.
31. Kuo, C. K.; Li, W., Mauch, R. y Tuan, R. (2006). "Cartilage tissue engineering: its potential and uses." *Curr Opin Rheumatol* **18**(1): 64-73.
32. Roman-Blas, J. A., Stokes, D. G. y Jimenez, D. (2007). "Modulation of TGF-beta signaling by proinflammatory cytokines in articular chondrocytes." **15**(12): 1367-77.
33. Holland, T. A., Bodde, E., Cuijpers, V. Baggett, L., Tabata, Y., Mikos, A. y Jansen, J. (2007). "Degradable hydrogel scaffolds for in vivo delivery of single and dual growth factors in cartilage repair." *Osteoarthritis Cartilage* **15**(2): 187-97.
34. Nissinen, L., Pirila, L., y Heino, J. (1997). "Bone morphogenetic protein-2 is a regulator of cell adhesion." *Exp Cell Res* **230**(2): 377-85.
35. Kidd, B. L. (2006). "Osteoarthritis and joint pain." *Pain* **123**(1-2): 6-9.
36. Mobasheri, A., Csaki, C., Clutterbuck, A., Rahmanzadeh, M. y Shakibaei, M. (2009). "Mesenchymal stem cells in connective tissue engineering and regenerative medicine: applications in cartilage repair and osteoarthritis therapy." *Histol Histopathol* **24**(3): 347-66.
37. Abramson, S. B. y Yazici, Y. (2006). "Biologics in development for rheumatoid arthritis: relevance to osteoarthritis." *Adv Drug Deliv Rev* **58**(2): 212-25.
38. Connelly, J. T., Wilson, C. G. y Levenston, M. (2008). "Characterization of proteoglycan production and processing by chondrocytes and BMSCs in tissue engineered constructs." *Osteoarthritis Cartilage* **16**(9): 1092-100.
39. Fukui, N., Ikeda, Y., Ohnuki, T., Tanaka, N., Hikita, A., Mitomi, H., Mori, T., Juji, T., Katsuragawa, Y., Yamamoto, S., Sawabe, M., Yamane, S., Suzuki, R., Sandell, L. y Ochi, T. (2008). "Regional differences in chondrocyte metabolism in osteoarthritis: a detailed analysis by laser capture microdissection." *Arthritis Rheum* **58**(1): 154-63.
40. Sandell, L. J. y Aigner, T. (2001). "Articular cartilage and changes in arthritis. An introduction: cell biology of osteoarthritis." *Arthritis Res* **3**(2): 107-13.
41. Wakitani, S., Imoto, K., Yamamoto, T., Saito, M., Muratani, N. y Yoneda, M. (2002). "Human autologous culture expanded bone marrow mesenchymal cell transplantation



- for repair of cartilage defects in osteoarthritic knees." *Osteoarthritis Cartilage* **10**(3): 199-206.
42. Hollander, A. P., Dickinson, S. C., Sims, T., Brun, P., Cortivo, R., Kon, E., Marcacci, M., Zanasi, S., Borriore, A., Deluca, C., Pavesio, A., Soranzo, C. y Abatangelo, G. (2006). "Maturation of tissue engineered cartilage implanted in injured and osteoarthritic human knees." *Tissue Eng* **12**(7): 1787-98.
43. Vacanti, C. A. (2006). "The history of tissue engineering." *J Cell Mol Med* **10**(3): 569-76.
44. Kaihara, S. y Vacanti, J. (1999). "Tissue Engineering. Toward new solutions for Transplantation and reconstructive Surgery." *Arch. Sur.* 134:1184-1188.
45. Schultz, O., Sittinger, M., Haeupl, T. y Burmester, G. (2000). "Emerging strategies of bone and joint repair." *Arthritis Res* **2**(6): 433-6.
46. Vats, A., Tolley, N., Polak, J. y Gough, J. (2003). "Scaffolds and biomaterials for tissue engineering: a review of clinical applications." *Clin Otolaryngol Allied Sci* **28**(3): 165-72.
47. Rice, M. A., Dodson, B., Arthur, J., y Anseth, K. (2005). "Cell-based therapies and tissue engineering." *Otolaryngol Clin North Am* **38**(2): 199-214, v.
48. Hendrich, C., Noth, V. y Eulert, J. (2003). *Cartilage surgery and future perspective*. 1a edition. Springer Verlag.
49. Koh, C. J. y Atala, A. (2004). "Tissue engineering, stem cells, and cloning: opportunities for regenerative medicine." *J Am Soc Nephrol* **15**(5): 1113-25.
50. Ibarra, C., Garaadiego, D., Martinez, V., y Velasquillo, C. (2007). "Ingeniería de tejidos y osteoartritis. Reumatol." *Clin.* 3 Supl 3:S19-22.
51. Haasper, C., Zeichen, J., Meister, R., Krettek, C. y Jagodzinski, M. (2008). "Tissue engineering of osteochondral constructs in vitro using bioreactors." *Injury* **39 Suppl 1**: S66-76.
52. Pfeiffer, E., Vickers, S. M., Frank, E., Grodzinsky, A. J. y Spector, M. (2008). "The effects of glycosaminoglycan content on the compressive modulus of cartilage engineered in type II collagen scaffolds." *Osteoarthritis Cartilage* **16**(10): 1237-44.
53. Mimura T., Imai S., Kubo M., Isoya E., Ando K., Okumura N. y Matsusue Y. (2008). "A novel exogenous concentration-gradient collagen scaffold augments full-thickness articular cartilage repair." *Osteoarthritis Cartilage* **16**(9): 1083-91.
54. Ahmed, T., Dare, E. y Hincke, M. (2008). "Fibrin: a versatile scaffold for tissue engineering applications." *Tissue Eng Part B Rev* **14**(2): 199-215.

55. Wang, Y., Blasioli, D. J., Kim, H. y Kaplan, D. (2006). "Cartilage tissue engineering with silk scaffolds and human articular chondrocytes." *Biomaterials* **27**(25): 4434-42.
56. Mahmood, T. A., Shastri, V. P., VanBlitterswijk, C., Langer, R. y Riesle, J. (2005). "Tissue engineering of bovine articular cartilage within porous poly(ether ester) copolymer scaffolds with different structures." *Tissue Eng* **11**(7-8): 1244-53.
57. Stevens, M. M. (2008). "Biomaterials for bone tissue engineering." *Materials Today* **11**(5): 18-25.
58. Yasuda, A., Kojima, K., Tinsley, K., Yoshioka, H., Mori, Y y Vacanti, C. (2006). "In vitro culture of chondrocytes in a novel thermoreversible gelation polymer scaffold containing growth factors." *Tissue Eng* **12**(5): 1237-45.
59. Liao, E., Yaszemski, M., Krebsbach, P. y Hollister, S. (2007). "Tissue-engineered cartilage constructs using composite hyaluronic acid/collagen I hydrogels and designed poly(propylene fumarate) scaffolds." *Tissue Eng* **13**(3): 537-50.
60. Ochi, M., Uchio, Y., Tobita, M. y Kuriwaka, M. (2001). "Current concepts in tissue engineering technique for repair of cartilage defect." *Artif Organs* **25**(3): 172-9.
61. Haddo, O., Higgs, M., Pringle, D. Cannon, B. y Briggs, T. (2004). "The use of chondroglide membrane in autologous chondrocyte implantation." *Knee* **11**(1): 51-5.
62. Kafienah, W., Mistry, S., Dickinson, S., Sims, T., Learmonth, I. y Hollander, A. (2007). "Three-dimensional cartilage tissue engineering using adult stem cells from osteoarthritis patients." *Arthritis Rheum* **56**(1): 177-87.
63. Marlovits, S., Tichy, B., Truppe, M., Gruber, D. y Vecsei, V. (2003). "Chondrogenesis of aged human articular cartilage in a scaffold-free bioreactor." *Tissue Eng* **9**(6): 1215-26.
64. Jung, Y., Kim, S. H., Kim, S., Kim Y. H., Xie, J., Matsuda, T. y Min, B. (2008). "Cartilaginous tissue formation using a mechano-active scaffold and dynamic compressive stimulation." *J Biomater Sci Polym Ed* **19**(1): 61-74.
65. Abramson, S. y Krasnohutsky, S. (2006). "Biomarkers in Osteoarthritis." *Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases.* **64**(1): 77-81.