

CÁTEDRA DE TRAUMATOLOGÍA Y CIRUGÍA ORTOPÉDICA. UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Prof. F. GOMAR SANCHO

CÁTEDRA DE TRAUMATOLOGÍA Y CIRUGÍA ORTOPÉDICA. UNIVERSIDAD DE VALENCIA

Prof. F. GOMAR GUARNER

Actividad mitótica del cartílago articular del conejo sometido a inmovilización y descarga

F. GOMAR SANCHO, E. GASTALDI y J. IBORRA

RESUMEN

En un grupo de 7 conejos en crecimiento, se ha estudiado la captación de timidina H_3 y el índice de mitosis celular en el cartílago articular de la rodilla sometida a descarga absoluta.

El estudio con autorradiografía demuestra que a las 48 horas de inmovilización, la captación de timidina H_3 y el índice de mitosis es igual que en la rodilla testigo. Se discute el verdadero papel de la movilidad articular en la nutrición del cartílago.

Descriptores: Movilidad y nutrición cartilaginosa.

SUMMARY

The thymidine H_3 uptake in the mitosis index into the articular cartilage of the knee is studied in 7 growing rabbits without weight bearing.

The autoradiography shows that, after 48 hours of immobilization, the uptake of thymidine H_3 and the mitosis index is the same in the free knee. The actual role of the joint movements in the cartilaginous nourishment is discussed.

Key words: Mobility in the cartilaginous nourishment.

Introducción

El cartílago articular, siendo un tejido prácticamente avascular, tiene un metabolismo fundamentalmente anaerobio y su mecanismo de nutrición es por difusión gracias a su permeabilidad (15, 16).

Clásicamente se ha aceptado que, para la penetración de las distintas sustancias nutritivas hasta las capas más profundas del cartílago articular, es fundamental su compresión y descompresión durante la actividad articular, lo que SALTER (21) denominó

«efecto bomba» y MAROUDAS (14) «efecto esponja». Las lesiones que se producen experimentalmente en el cartílago articular por simple inmovilización (3, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 13, 19, 21) han sido atribuidas precisamente al bloqueo de este «efecto esponja».

Sin embargo los trabajos de MAROUDAS (14, 15, 16, 17) han puesto de manifiesto que al menos «in vitro» el cartílago articular tiene suficiente permeabilidad para que por simple difusión penetren en su seno las distintas moléculas necesarias para mantener la vitalidad de este tejido.

En un trabajo experimental previo (9) habíamos demostrado la gran diferencia de las lesiones provocadas en el cartílago articular de la rodilla del conejo por inmovilización, según ésta fuese en posición funcional o forzada. La mayor intensidad de las lesiones en el segundo caso hacía intuir que era más nocivo el efecto de compresión entre las superficies articulares que la simple inmovilización con pérdida del «efecto bomba» del cartílago.

De la revisión de los distintos trabajos experimentales sobre lesiones del cartílago articular por inmovilización (3, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 13, 19, 21) se deduce que en ningún caso se ha conseguido un modelo experimental en el que se estudiase aisladamente los efectos de la inmovilización sin presión interfaccetaria.

Este trabajo experimental tiene como objeto estudiar la difusión de la timidina H³ en el cartílago articular y su índice de mitosis en condiciones de inmovilización y descarga completa, en la rodilla del conejo inmaduro, denervando el miembro inferior para eliminar la compresión entre las carillas articulares por el espasmo o el simple tono muscular, amputando la extremidad distal para evitar el apoyo e inmovilizando rigidamente la articulación.

Material y método

Se han utilizado 7 conejos en crecimiento de raza California, de 6 semanas de edad, entre 800 y 950 grs. de peso.

Los animales fueron intervenidos bajo anestesia general con clorhidrato de ketamina e inhalación de eter sulfúrico.

En condiciones de asepsia se practicó una triple intervención quirúrgica:

— Abordaje posterolateral de cadera, identificación del nervio ciático común entre el bíceps femoris y glúteo superficial y sección en su nivel más proximal.

— Abordaje anterior de cadera, sobre pliegue inguinal, identificando el paquete vasculo-nervioso y seccionando el nervio crural.

— Desarticulación a nivel tibiotarsiano con el fin de evitar el apoyo del miembro.

En todos los casos se inmovilizó la articulación de la rodilla con un sistema de fijación externa: 2 agujas de Kirschner a través de la porción inferior del fémur y otras 2 en la porción superior de la tibia, en ambos casos a 1'5 cm. de la interlínea articular, solidarizando las 4 agujas a ambos lados del miembro con gruesas férulas de yeso.

A las 48 horas de la intervención se inyectó en ambas rodillas de cada animal 1 cc de solución de timidina H³ equivalente a 20 microcurios. A las 4 horas de la inyección del isótopo se sacrificaron los animales mediante inyección intracardiaca de formolaldehído. Tras el sacrificio se extrajeron ambas rodillas, intervenida y testigo, para su estudio histológico.

Las piezas fueron fijadas con formolaldehído al 10 por 100 durante 4 días, decalcificadas en ácido fórmico al 8 por 100 durante 10 días y procesadas para su estudio histológico y autorradiográfico.

Se practicaron cortes histológicos de 5 micras de espesor en el plano frontal de la rodilla a diversos niveles. El 50 por 100 de los cortes se tiñeron con hematoxilina-eosina, tricrómico de Mason y azul de toluidina para estudio histológico rutinario y el resto fueron cubiertos con película autorradiográfica Kodak AR-10, manteniéndolas en cámara oscura durante 30 días, revelándolas posteriormente con revelador Kodak D-19 y tiñiéndolas con hematoxilina-eosina.

Resultados

El estudio con microscopía óptica y metacromasia no demostró alteraciones del cartílago articular en la rodilla sometida a inmovilización en relación con la rodilla testigo. En ambos casos el cartílago era de grosor normal sin modificaciones en sus células y matriz intercelular.

El estudio de los cortes autorradiografiados se hizo sobre 20 muestras de cada una de las rodillas de todos los animales, eligiendo los de mejor calidad y en proporción semejante en cada uno de los niveles de corte.

Para realizar el recuento de las mitosis se consideró cuatro estratos: zona superficial, zona A de Mankin, zona B de Mankin y zona profunda incluyendo la capa de cartílago calcificado ampliándola a los dos últimos estratos celulares. Se estudió sólo la zona de carga del cartílago articular tanto en su componente tibial como femoral.

En cada corte autorradiografiado se seleccionaron seis campos microscópicos en los que se hizo un conteo de células marcadas con timidina

H^3 y células no marcadas, hallando los índices premitóticos, promediándolos y teniendo en cuenta los límites y errores standard, según metodología descrita por GARCÍA PENALVA (8).

Los resultados quedan reflejados en la tabla adjunta, en la que se puede observar que en todos los animales no hay diferencias significativas entre la rodilla inmovilizada y la testigo. En todas las secciones histológicas se demostró una captación de timidina H^3 en todas las capas, con unos índices de mitosis normales (Figuras 1 y 2).

Discusión

Los resultados obtenidos muestran que el cartílago articular de la rodilla del conejo en crecimiento, en condiciones de descarga

e inmovilidad absoluta, presenta una difusión para la timidina triptiada y un índice de mitosis superponibles a las condiciones fisiológicas normales.

Actualmente se acepta que en el cartílago articular en crecimiento pueden diferenciarse tres zonas cuyas condiciones nutricias son diferentes: una zona superficial que incluiría la capa tangencial y capa de cartílago intermedio, una zona central que corresponde a los dos tercios más superficiales de las capas de cartílago radiado y una zona profunda correspondiente al tercio más profundo del cartílago radiado.

La zona superficial tiene una fácil difusión molecular desde el líquido sinovial, pe-

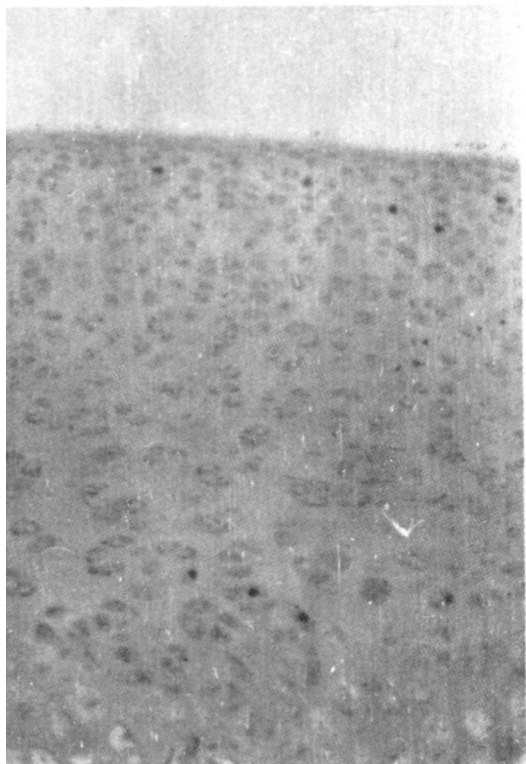


FIG. 1.—Cartílago articular femoral de la rodilla testigo del conejo n.º 3. Autorradiografía teñida con hematoxilina-eosina 50 X. Todas las capas del cartílago muestran células marcadas con timidina H^3 , más abundantes en las zonas A y B de Mankin.

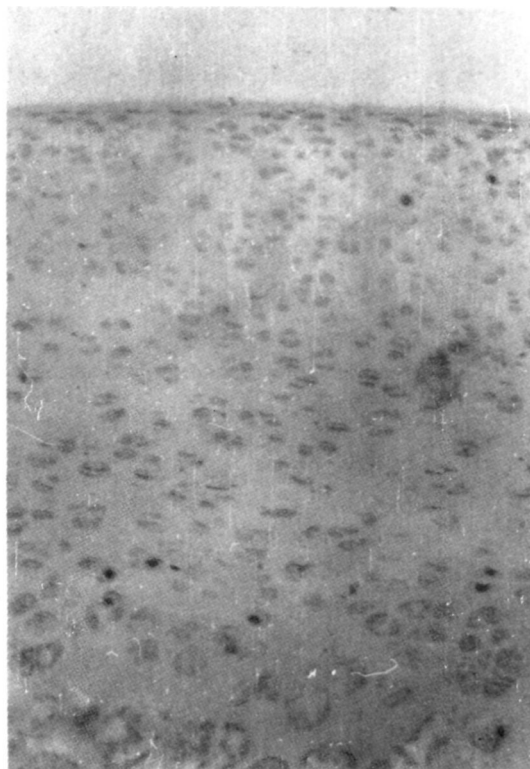


FIG. 2.—Cartílago articular femoral de la rodilla inmovilizada del conejo n.º 3. Autorradiografía teñida con hematoxilina-eosina 50 X. El número de células marcadas con timidina H^3 y su distribución es superponible a la figura 1, correspondiente al testigo.

Tabla de recuento de mitosis

<u>Animal nº 1</u>	FEMUR INM.	FEMUR TEST.	TIBIA INM.	TIBIA TEST.
Zona superficial	7'2 ± 0'22	8'3 ± 0'31	5'7 ± 0'41	6'2 ± 0'27
Zona A	11'2 ± 0'71	10'4 ± 0'32	12'3 ± 0'51	11'1 ± 0'38
Zona B	4'5 ± 0'33	5'4 ± 0'68	3'9 ± 0'29	5'1 ± 0'37
Zona profunda	1'4 ± 0'27	1'7 ± 0'44	1'3 ± 0'35	1'6 ± 0'19
<u>Animal nº 2</u>				
Zona superficial	8'1 ± 0'31	7'5 ± 0'17	6'6 ± 0'21	7'1 ± 0'23
Zona A	10'8 ± 0'53	10'3 ± 0'57	11'2 ± 0'33	10'9 ± 0'45
Zona B	3'8 ± 0'26	4'3 ± 0'47	3'7 ± 0'21	2'9 ± 0'44
Zona profunda	1'1 ± 0'44	1'3 ± 0'18	1'4 ± 0'46	1'1 ± 0'26
<u>Animal nº 3</u>				
Zona superficial	8'9 ± 0'18	8'3 ± 0'25	5'3 ± 0'32	7'1 ± 0'55
Zona A	12'3 ± 0'41	11'4 ± 0'55	10'7 ± 0'34	12'1 ± 0'29
Zona B	3'8 ± 0'20	4'2 ± 0'19	4'2 ± 0'24	3'9 ± 0'21
Zona profunda	1'7 ± 0'15	1'4 ± 0'12	0'9 ± 0'11	1'0 ± 0'09
<u>Animal nº 4</u>				
Zona superficial	6'7 ± 0'32	7'2 ± 0'31	7'7 ± 0'37	6'4 ± 0'27
Zona A	14'2 ± 0'83	12'4 ± 0'37	12'2 ± 0'48	12'4 ± 0'51
Zona B	4'7 ± 0'11	5'2 ± 0'21	5'3 ± 0'26	4'9 ± 0'23
Zona profunda	1'3 ± 0'19	1'6 ± 0'12	1'4 ± 0'17	1'4 ± 0'20
<u>Animal nº 5</u>				
Zona superficial	7'6 ± 0'24	6'4 ± 0'41	5'2 ± 0'25	5'8 ± 0'19
Zona A	13'1 ± 0'55	12'4 ± 0'82	12'2 ± 0'46	11'9 ± 0'32
Zona B	5'1 ± 0'27	6'2 ± 0'23	5'9 ± 0'31	4'3 ± 0'21
Zona profunda	1'3 ± 0'11	1'2 ± 0'14	0'9 ± 0'09	1'3 ± 0'14
<u>Animal nº 6</u>				
Zona superficial	7'1 ± 0'35	8'5 ± 0'22	5'8 ± 0'37	6'4 ± 0'36
Zona A	12'4 ± 0'61	11'7 ± 0'46	10'8 ± 0'55	11'5 ± 0'31
Zona B	6'2 ± 0'26	5'4 ± 0'32	6'1 ± 0'31	6'1 ± 0'21
Zona profunda	1'1 ± 0'13	1'2 ± 0'17	1'6 ± 0'21	1'5 ± 0'12
<u>Animal nº 7</u>				
Zona superficial	8'3 ± 0'15	7'8 ± 0'27	7'1 ± 0'26	7'2 ± 0'19
Zona A	11'3 ± 0'44	10'4 ± 0'38	12'5 ± 0'22	13'0 ± 0'32
Zona B	3'9 ± 0'17	4'7 ± 0'24	3'3 ± 0'19	3'8 ± 0'21
Zona profunda	1'5 ± 0'14	1'4 ± 0'11	1'3 ± 0'17	1'1 ± 0'22

netrando en ella sin dificultad incluso moléculas de gran tamaño (14, 15, 16). La zona más profunda también tiene una fácil penetración de nutrientes a partir de las asas vasculares, que en el animal en crecimiento, llegan al cartílago calcificado a través de unos canaliculos perforantes del tejido óseo subcondral (1, 2, 4, 12). Por el contrario, la zona intermedia es la que más dificultades tiene para su intercambio metabólico, no solamente por su lejanía del ambiente sinovial y de las asas vasculares que alcanzan la profundidad del cartílago, sino fundamentalmente por su alta concentración de proteinglicanos que dificultan enormemente la penetración de moléculas de gran tamaño (18, 20). En la nutrición de esta capa intermedia es donde parece tener gran importancia el «efecto esponja» en la compresión y descompresión del cartílago durante la actividad articular.

El «efecto esponja» es un mecanismo indiscutible de facilitación de la nutrición del cartílago articular, sin embargo no hay acuerdo en cuanto a su trascendencia y si es o no imprescindible para esta nutrición. Este trabajo experimental ha demostrado como eliminando aparentemente el «efecto esponja», la timidina H^3 penetra en todas las capas del cartílago articular, al igual que THAXTER (24) lo hiciera con S^{35} . MAROUDAS (14, 17, 18) en sus numerosos trabajos experimentales «in vitro» pone de manifiesto una buena nutrición del cartílago articular por simple mecanismo de difusión, aunque sus resultados deben ser valorados cautelosamente porque es un hecho conocido que el cartílago articular sufre importantes cambios metabólicos en medio de cultivo.

Los resultados de estos estudios contrastan con las graves lesiones que se provocan experimentalmente inmovilizando las articulaciones (3, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 13, 19, 21). Por ello se han buscado otras interpretaciones patogénicas como la falta de renovación del líquido sinovial (23), incluso se ha pensado que el desuso llevaría a una atrofia del

cartílago tal como ocurre en el hueso. Apoyarían esta última idea los trabajos de SALTER (22) que han puesto de manifiesto como el movimiento continuo acelera la diferenciación cartilaginosa del tejido cicatricial que cubre los defectos de cartílago articular. En contra de esta posible teoría de atrofia por desuso, el presente trabajo experimental ha demostrado que el número de mitosis celulares no se modifica en el cartílago sometido a descarga e inmovilización.

El «efecto esponja» y su efecto en la nutrición del cartílago articular sigue siendo un concepto válido, apoyado en un gran número de trabajos experimentales. El resultado de este trabajo junto con las aportaciones de THAXTER (24) y MAROUDAS (14, 17, 18), no son suficientes para ponerlo en duda. Sin embargo, demuestran una gran capacidad del cartílago articular para la penetración de los nutrientes por simple difusión. Hay que pensar que las graves lesiones del cartílago articular que se consiguen experimentalmente en tan corto período de tiempo son debidas en muy pequeña proporción al bloqueo del «efecto esponja», teniendo mucha mayor importancia la compresión entre las carillas articulares (9, 21) impidiendo la difusión de moléculas en el seno del cartílago articular, compresión que depende en gran parte de la posición de inmovilización, siendo más acentuado en posiciones forzadas (9).

BIBLIOGRAFIA

1. BARNETT, C. H.; DAVIES, D. V. y MAC CONNAILL, M. A. (1961): *Synovial joints: Their structure and mechanics*. Springfield, Illinois: C.C. Thomas.
2. BRODIN, H. (1955): Path of nutrition in articular cartilage and intervertebral disc. *Acta Orthop. Scand.*, 24, 177.
3. ERONEN, I.; VIDEMAN, T.; FRIMAN, C. E. y MICHELSON, J. E. (1978): Glycosaminoglycan metabolism in experimental osteoarthritis caused by immobilization in rabbits. *Clin. Orthop.*, 111, 290.
4. EKHOLM, R. (1951): Articular cartilage nutrition. *Acta Anat. Suppl.*, 15.

5. FIELD, P. L. y HUESTON, J. T. (1970): Articular cartilage loss in longstanding immobilization of interphalangeal joints. *Brit. J. Plast. Surg.*, 22, 186.
6. FINSTERBUSH, A. y FRIEDMANN, B. (1973): Early changes in immobilized rabbits knee joints: a light and electron microscopic study. *Clin. Orthop.*, 92, 305.
7. FINSTERBUSH, A. y FRIEMANN, B. (1975): Reversibility of joint changes produced by immobilization in rabbits. *Clin. Orthop.*, 111, 290.
8. GARCÍA PENALVA, A. (1973): Artropatía cortisónica experimental: Estudio de la acción de la cortisona sobre el cartilago articular. *Rev. Esp. Cir. Ost.*, 8, 299.
9. GOMAR-SANCHO, F. y ESTREMS, V. J. (1981): La posición de inmovilización articular y su repercusión en el cartilago articular. Estudio experimental. *Rev. Esp. Cir. Ost.*, 16, 249.
10. HALL, M. C. (1963): Cartilage changes after prolonged immobilization of the Knee joint of the young rat. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 45-A, 36.
11. HALL, M. C. (1964): Articular changes in the Knee of the adult rat after prolonged immobilization in rabbits. *Clin. Orthop.*, 111, 290.
12. HOLMDAHL, P. E. e INGELMARK, B. E. (1950): The contact between the articular cartilage and the medullary cavities of bone. *Acta Orthop. Scand.*, 20, 1156.
13. LANGENSKIOLD, A. (1979): Osteoarthritis of the knee in the rabbit produced by immobilization. *Acta Orthopedica Scandinava*, 50, 1.
14. MAROUDAS, A.; BULLOUGH, P. G.; SWANSON, S.A.V. y FREEMAN, M.A.R. (1968): The permeability of articular cartilage. *Journal of Bone and Joint Surgery*, 50-B, 166.
15. MAROUDAS, A. (1970): In Chemistry and Molecular Biology of the Intercellular Matrix, vol. 3, p. 1389. Ed. Balazs, E. A. London: Academic Press.
16. MAROUDAS, A. y MUIR, H. (1970): In Chemistry and Molecular Biology of the Intercellular Matrix, vol. 3, p. 1381. Ed. Balazs, E. A. London: Academic Press.
17. MAROUDAS, A. y EVANS, H. (1974): Sulphate diffusion and incorporation into human articular cartilage. *Biochim. Biophys. Acta*, 338, 256.
18. MAROUDAS, A. y EVANS, H. (1974): Sulphate diffusion and incorporation into human articular cartilage. *Biochim. Biophys. Acta*, 338, 265.
19. MICHELSON, J. E.; VIDEMAN, T. y LANGENSKIOLD, A. (1977): Changes in bone formation during immobilization and development of experimental osteoarthritis. A study using oxitetracycline in rabbits. *Acta Orthopedica Scandinava*, 48, 443.
20. OGSTON, A. G. (1970): In Chemistry and Molecular Biology of the Intercellular Matrix, vol. 3, p. 1231. Ed. Balazs, E. A. London: Academic Press.
21. SALTER, B. B. y FIELD, P. (1960): The effects of continuous compression on living articular cartilage. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 42-A, 31.
22. SALTER, R. B.; SIMMONDS, D. F.; MALCOMB, B. W.; RUMBLE, E. J.; MACMICHAEL, D. y CLEMENT, N. D. (1980): The biological effect of continuous passive motion on the healing of full-thickness defects in articular cartilage. An experimental investigation in the rabbit. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 62-A, 1232.
23. SCHUBERT, M. (1964): In Connective tissue: Intercellular Macromolecules, p. 119. London: J. and A. Churchill.
24. THAXTER, T.T.H.; MANN, R. A.; ANDERSON, C. F. (1965): Degeneration of immobilized knee joints in rats: histological and autoradiographic study. *Journal of Bone and Joint Surgery*, 42-A, 567.