

NOU MODEL ANIMAL EXPERIMENTAL PER A  
L'ARTROSI PRECOÇ

Jordi Faig Martí

Directors: Dr. Robert Ramon Soler  
Dra. Verónica Rona Hadjuská

Barcelona, Novembre 2002

Per la Maria i ...

## **AGRAÏMENTS**

Al Dr. Bruno Gerber per haver-me facilitat el material per iniciar aquest estudi.

Al Dr. Robert Ramon per haver-me estimulat a continuar-lo.

A la Dra. Verónica Rona per haver-me ajudat a acabar-lo aportant el seus coneixements i experiència en el camp de l'Anatomia Patològica.

Al Dr. Moragas per haver posat a la meva disposició els mitjans necessaris per estudiar el material al Servei d'Anatomia Patològica de l'Hospital Vall d'Hebron.

I, finalment, a tots els que, sense haver fet grans aportacions científiques a aquest treball, m'han donat el seu suport per dur-lo a terme.

# ÍNDIX

1. Introducció.....	1
• Consideracions generals.....	1
• Estructura del cartílag articular sa.....	4
○ Condròcits.....	7
○ Matriu cartilaginosa.....	8
○ Aigua.....	13
○ Líquid sinovial.....	14
○ Superfície articular.....	14
• Biomecànica del cartílag articular sa.....	15
○ Permeabilitat del cartílag articular.....	16
○ Elasticitat del cartílag dependent del flux en compressió...16	
○ Propietats viscoelàstiques de fregament del cartílag articular independents del flux.....	18
○ Propietats tensils del cartílag articular.....	19
• Fisiologia del cartílag articular sa i patològic.....	19
○ Síntesi de proteoglicans.....	19
○ Catabolisme dels proteoglicans.....	20
○ Síntesi de col·lagen.....	20
○ Catabolisme del col·lagen.....	21
○ Nutrició.....	21
○ Lubrificació.....	23
○ Maduració del cartílag articular.....	24
○ Factors de creixement i cartílag articular.....	25
○ Enzims que degraden el cartílag articular.....	25
• Degeneració del cartílag articular.....	26
○ Factors etiològics.....	26
○ Fisiopatologia.....	29
○ Canvis histològics al cartílag degenerat.....	35
○ Clínica.....	36
○ Classificacions morfològiques.....	37
• Reparació del cartílag articular.....	40
2. Hipòtesi.....	45
3. Objectiu.....	45
4. Material i mètode.....	47
• Creació del model experimental.....	48
• Material.....	49
• Mètodes.....	49
○ Tècnica histològica.....	49
○ Estudi histològic i histomorfomètric.....	50
○ Mètode d'anàlisi d'imatge.....	51
○ Proves bioquímiques.....	52
○ Mètode estadístic.....	53

5. Resultats.....	55
• Estudi qualitatiu.....	56
• Estudi quantitatiu.....	58
• Estudi estadístic.....	77
○ Mesures histològiques.....	77
○ Índex de rugositat.....	86
○ Mesures bioquímiques.....	87
6. Discussió.....	95
• Aspectes morfològics de la lesió experimental del cartílag articular.....	95
• Aspectes bioquímics de la lesió experimental del cartílag articular.....	101
7. Conclusions.....	105
8. Bibliografia.....	107

---

## **INTRODUCCIÓ**

articular del genoll o altres tractaments quirúrgics a fases inicials de l'artrosi. Els mètodes químics creen una resposta inflamatòria global dins l'articulació que es pot sobreposar a l'existent a l'artrosi humana. Però hi manca una vertadera lesió superficial del cartílag susceptible de ser tractada amb un allisament quirúrgic. A més a més, amb la injecció intraarticular de substàncies com els corticoides es pot produir una lesió del cartílag que si li donem prou temps es recupera espontàniament. Entre els models mecànics, aquells en què no practiquem artrotomia, com ara la contusió de l'articulació femoropatellar, poden no produir un àrea lesionada prou gran com per tractar-la quirúrgicament després o crear-la en un lloc de difícil accés. I també té l'inconvenient que pot guarir espontàniament. Els models basats en la meniscectomia o secció del lligament creuat anterior impliquen la persistència d'un factor inductor de lesió que hauria estat eliminat a l'humà per una reconstrucció lligamentosa o una osteotomia. D'altra banda, a altres models, la inflamació articular deguda a l'artrosi desapareix amb el temps després d'aturar-se l'acció del factor que va generar la inflamació, i pot donar la falsa impressió que un nou tractament és efectiu quan de fet seria l'evolució natural d'aquell model.

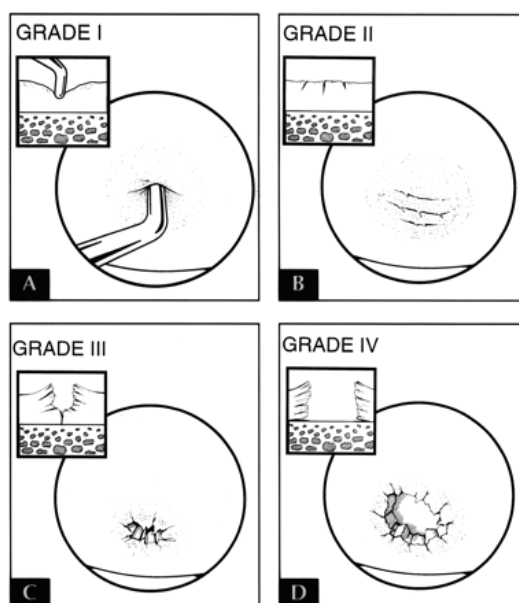
No disposem d'un model animal per a l'estudi de l'artrosi humana que sigui vàlid per aclarir tots els aspectes de la malaltia respecte al seu origen, evolució, característiques i tractament. Cada model animal s'ha d'adaptar a l'aspecte concret que volem estudiar (Gómez Barrena 1991). Si no és així podem trobar resultats que no siguin lògics (Armstrong 1977).

A la superfície del cartílag articular, les fibres de col·lagen s'orienten paral·lelament a la superfície articular i a capes més profundes es van tornant més gruixudes i adquireixen una orientació a l'atzar (Muir 1970). En aquesta primera capa, els condrocits tenen un citoplasma petit i una menor activitat metabòlica, no produeixen polisacàrids sulfatats. Però en canvi, la matriu col·làgena que els envolta és més densa i resistent i no conté gaires proteoglicans (PG). Aquesta malla de fibres superficial, espessa, seria difícil de travessar per molècules de certa mida actuant com a barrera protectora de les capes més profundes (Weiss 1968). Podria estar formada per fibres de col·lagen primes però molt compactades entre sí, envoltades per una substància granular fina. Aquesta substància granular es pot digerir amb tripsina, deixant les fibres al descobert, però és resistent a hialuronidasa i neuraminidasa. La col·lagenasa pot trencar aquesta capa, probablement digerint grups de fibres no protegides per la substància intersticial que les envolta. Les càrregues elèctriques podrien correspondre sobretot a la substància intersticial, sensible a la tripsina, i per tant de naturalesa proteica. Tots els resultats experimentals suggereixen que a la superfície del cartílag articular normal existeix una barrera contínua electroquímica molt relacionada amb la barrera selectiva a la mida que representa la densa xarxa col·làgena (Stanescu 1982). Quan es lesiona aquesta capa, els elements lesionats ataquen les altres zones més profundes perquè tenen el camí lliure per permetre el procés degeneratiu del cartílag (Clarke 1971). Si aquesta capa protectora es pogués tornar a formar, protegiria la resta del teixit i potser frenaria l'evolució del procés degeneratiu. Aquest és el paper que s'ha donat a la condroplàstia amb làser i que justifica la seva investigació (Gerber, comunicació personal).

En els darrers anys s'ha investigat també la condroplàstia utilitzant radiofreqüència amb transductors monopolars. Aquesta tècnica crea un augment local de temperatura que fon el col·lagen i allisa la superfície. Però també mata els condrocits

del cartílag fent impossible qualsevol manteniment del teixit per part de les cèl·lules que li són pròpies (Lu 2000).

Per avaluar l'ús de les noves tecnologies làser en el tractament de la patologia del cartílag ens cal un nou model animal. Actualment, la principal aplicació del làser en patologia cartilaginosa és l'allisament de la superfície a estadis inicials de l'artrosi. Als estadis II i III d'Outerbridge (1961) (figura 1) per la condromalàcia rotuliana el cartílag articular està clivellat a l'estadi II i amb fibril·lació al III. El tractament artroscòpic tradicional per aquestes lesions és la neteja mecànica. Però estudis recents semblen indicar un millor resultat amb l'ús del làser (Lübbbers 1996, Sherk 1993, Siebert 1994). Per tant, necessitem un model per estudiar aquesta qüestió. Actualment s'està investigant la condroplàstia amb làser a estadis inicials de l'artrosi dins un projecte del Consell de l'Institut Federal Suís de Tecnologia sobre les aplicacions mèdiques del làser. El treball experimental per aquest projecte necessita un model animal que ens permeti acceptar que les conclusions obtingudes seran vàlides també a l'aplicació del tractament en humans. S'han dut a terme diversos treballs sobre l'efecte del làser en cartílag articular amb models animals (Raunest 1994). Però l'única conclusió definitiva que se'n pot treure és que el làser pot ser utilitzat amb seguretat sobre cartílag articular a articulacions humanes, perquè els models animals fent servir cartílag sa no mostraven cap efecte indesitjable. Però encara s'ha de demostrar experimentalment el benefici del làser en estadis inicials de l'artrosi, cosa que els estudis en humans semblen suggerir.



**Figura 1.** Graus d'artrosi d'Outerbridge (Mandelbaum 1998)



El model hauria de tenir les següents característiques:

- al moment del tractament experimental hauríem de veure una lesió macroscòpica comparable a l'artrosi
- els signes artròsics als paràmetres histològics i bioquímics s'haurien d'obtenir de forma reproducible en un període de temps raonable
- és essencial un seguiment suficient del model sense que s'hi produeixi un guariment espontani ni una deformitat articular significativa
- la persistència del factor lesional ha de ser evitat durant tot el període de seguiment perquè en clínica corregiríem el factor causal del procés degeneratiu si el coneguéssim (Solchaga 1992).
- ha de ser possible la superposició de les observacions a l'humà
- hauríem d'aconseguir de manera senzilla prou superfície cartilaginosa lesionada

Per a portar a terme l'estudi objecte d'aquesta Tesi Doctoral s'ha utilitzat material procedent d'un projecte d'investigació del Consell de l'Institut Federal Suís de Tecnologia sobre les aplicacions mèdiques del làser esmentat anteriorment. En aquest estudi, es va crear un model experimental d'artrosi precoç al genoll esquerre en un grup de bous per escarificació de les superfícies articulars dels dos còndils femorals, la tròclea i la ròtula. Posteriorment es van tractar les lesions del còndil femoral medial amb una condroplàstia amb làser. El còndil extern no es va tornar a tocar després de crear-hi les lesions condrials. Els animals es van dividir en quatre grups que van ser sacrificats als 6 mesos, un any, dos i tres anys. El material obtingut dels genolls d'aquests animals va ser preparat per al seu estudi histològic i bioquímic. El material histològic i els resultats de l'estudi bioquímic corresponents als còndils femorals externs, i que per tant només han de mostrar artrosi sense haver rebut cap tractament, es va enviar a Barcelona per al seu estudi i per validar el model d'artrosi experimental utilitzat en el conjunt del projecte.

## **ESTRUCTURA DEL CARTÍLAG ARTICULAR SA**

Abans de començar a comentar l'estructura del cartílag articular recordem que la mobilitat entre els extrems ossis es produeix a nivell de les articulacions. Aquestes es poden dividir en cinc tipus (Salter 2000) segons les seves característiques:

1. Sindesmosi. Els extrems ossis estan units només per teixit fibrós.
2. Sincondrosi. És la unió entre cartílag i os. La placa epifisària dels ossos llargs seria una sincondrosi temporal.
3. Sinostosi. És l'obliteració d'una articulació amb os. Les sindesmosis i sincondrosis es poden arribar a ossificar donant una sinostosi.
4. Símfisi. Els extrems ossis estan coberts de cartílag hialí i la unió entre ells es produeix amb teixit fibrós i fibrocartílag.
5. Articulació sinovial. Les superfícies dels ossos estan cobertes de cartílag hialí i unides entre sí per una càpsula fibrosa i lligaments. Entre elles hi ha una cavitat amb líquid articular.

El tipus d'articulació que ens interessa per aquest treball és el darrer. I com a exemple per al seu estudi prendrem l'articulació del genoll. Recordem que en aquesta articulació els extrems ossis coberts de cartílag que la formen són l'epífisi distal del

fèmur, amb els seus dos còndils, i l'epífisi proximal de la tibia formada per un platet tibial intern i un d'extern. Entre les dues superfícies s'interposen un menisc intern i un extern que col·laboren en l'estabilitat passiva del genoll amb la càpsula articular, els dos lligaments creuats i els lligaments laterals intern i extern. A més a més, la musculatura de la cuixa i cama contribueixen a la seva estabilitat de forma activa.

Per permetre la mobilitat entre dos extrems ossis reduint les forces de fricció al mínim l'evolució ha desenvolupat el cartílag articular. A les articulacions de càrrega, aquest teixit també ha de resistir pressió. Per disminuir la fricció, ja podem imaginar que macroscòpicament s'ha de tractar d'una superfície llisa. A més a més, el líquid sinovial contribuirà a reduir la fricció. Per suportar pressions ha de ser un teixit sòlid amb una estructura que repassarem tot seguit. Per poder resistir tant la fricció com la pressió, el cartílag no pot contenir vasos o nervis. Si els tingués, precisaria un esquelet prou fort per evitar la deformació sota càrrega per evitar el col·lapse dels vasos i la lesió dels nervis, és a dir, hauria de tenir menys elasticitat, però només l'os és prou resistent. Però la mobilitat entre dos ossos produeix moltes forces de fricció. Per tant calia que en el decurs de l'evolució es desenvolupés un teixit com el cartílag articular. Tal com acabem de comentar, les seves funcions són permetre el moviment entre les superfícies articulars amb un mínim de fricció i transmetre les forces entre els extrems ossis repartint-les per tota la seva superfície evitant càrregues puntuals que podrien lesionar l'articulació. Aquestes característiques es perden quan el teixit cartilaginós degenera i apareix el procés que coneixem com artrosi.

Hi ha poques articulacions que siguin estables només per la seva estructura òssia i la càpsula articular i els lligaments donaran l'estabilitat necessària de forma passiva per evitar que l'articulació es luxi. La musculatura que envolta una articulació proporcionarà una estabilitat suplementària quan es contrau, i per tant, és un estabilitzador actiu.

Finalment, el líquid articular o sinovial, produït per una membrana sinovial que tapissa tota la cavitat articular, nodreix el cartílag i serveix de lubricant entre les dues superfícies cartilaginoses. La membrana sinovial conté cèl·lules superficials de tipus A, amb un gran complex de Golgi i lisosomes, i cèl·lules de tipus B, amb un gran reticle endoplàsmic rugós. Totes dues tenen funcions fagocítiques i de secreció. Els dos tipus de cèl·lules poden fagocitar partícules i formar vesícules que es fusionen amb lisosomes que contenen enzims per destruir la partícula estranya (Milgram 1990a).

El cartílag articular està format per un esquelet de fibres de col·lagen que conté condrocits, els quals creen una matriu amb un alt contingut en aigua i macromolècules per mantenir un equilibri osmòtic. Té doncs un component cel·lular (condrocits), una substància intercel·lular (col·lagen i proteoglicans) i un component inorgànic (aigua).

Macroscòpicament, el cartílag articular o hialí (del grec *hyalos*, cristall) és una capa llisa vidriosa que cobreix la porció articular de l'os, al qual està fortament unit. Al nen i jove és d'un color blanc blavós que es torna groc-marronós a l'adult i el vell. Segons la seva localització pot variar el seu gruix entre 1 mm a les falanges fins els 5 mm a la ròtula.

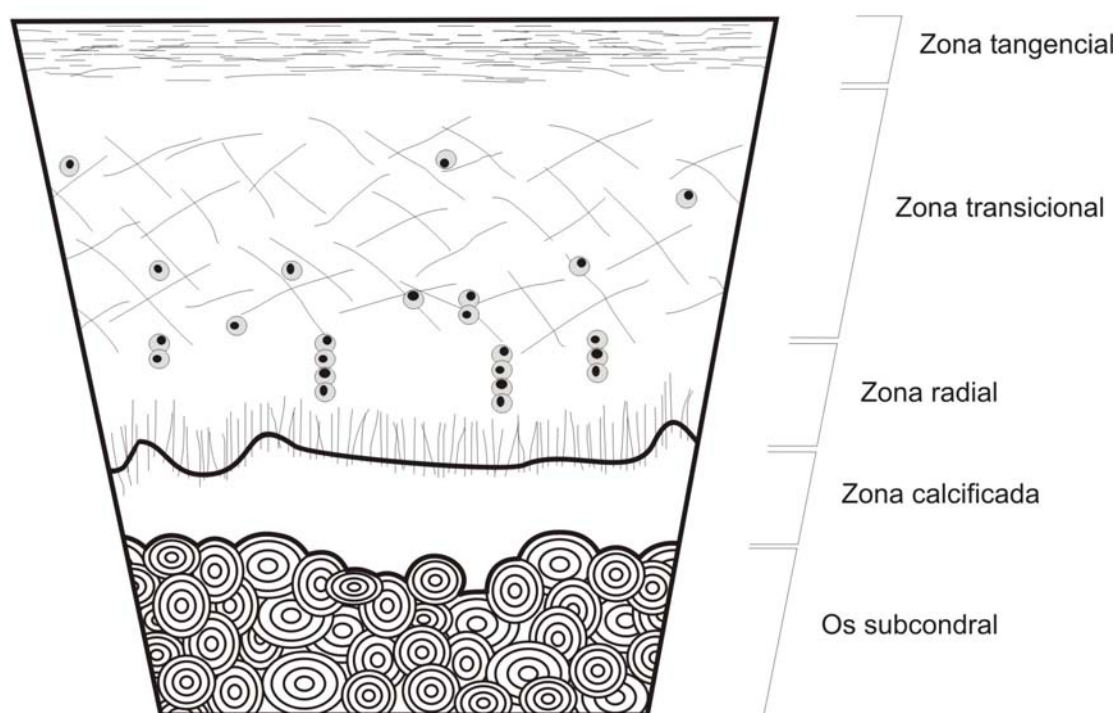
Histològicament, podem veure columnes de condrocits rodons propers un a l'altre a la capa més profunda del cartílag que es van separant i tornant-se plans a

mesura que ens acostem a la superfície. Amb microscopia electrònica, s'han identificat les fibres de col·lagen al cartílag. La seva disposició i gruix varia a les diferents zones del teixit. A la capa superficial els condrocits tenen un citoplasma relativament petit i poca activitat metabòlica; i les fibres col·làgenes són paral·leles a la superfície articular. A mesura que anem a capes més profundes, les fibres es tornen més gruixudes i l'orientació és a l'atzar (Weiss 1968).

Al voltant de cada condrocit s'ha definit una zona pericel·lular, una zona d'influència d'aquella cèl·lula, anomenada condró, i que es considera la unitat primària del cartílag des del punt de vista estructural, funcional i metabòlic (Poole 1997).

La microscopia òptica (làmina 1) mostra diferents capes (figura 2) que es diferencien per la densitat de la cel·lularitat i la forma dels condrocits, que indica diferents propietats mecàniques i bioquímiques que ens permeten dividir el cartílag articular en quatre zones (Milgram 1990a, Miralles 1997):

- Tangencial: condrocits plans que fa que semblin fibròcits (Hamerman 1970) i fibres de col·lagen de 20nm (Poole 2001) disposades horitzontalment, paral·leles a la superfície articular (Weiss 1968). El contingut en proteoglicans (PG) es baix.
  
- Transicional: condrocits més el·líptics i escampats per la matriu que conté fibres de col·lagen d'entre 30-60nm en una disposició obliqua d'una manera aparentment desorganitzada. Conté més PG que l'anterior.
  
- Radial: conté columnes de condrocits rodons i columnes de fibres de col·lagen gruixut paral·leles (Mankin 1997). Aquestes fibres estan ancorades a la capa calcificada sense arribar a l'os subcondral i són perpendiculars a les de la capa superficial (Bullough 1983). El contingut en PG és alt i el d'aigua és baix.
  
- Calcificada: conté columnes de col·lagen d'entre 40-70nm amb una periodicitat de 64nm sense una orientació definida i condrocits rodons en nius, però no PG, en una matriu calcificada amb cristalls d'hidroxiapatita càlcica. Té un gruix de només 50µm (Milgram 1990a). La tinció amb hematoxilina i eosina mostra una línia ondulant anomenada *tidemark* que separa les capes radial i calcificada. El límit més profund d'aquesta capa es la línia cimentada, formada per ossificació encondral a la fase final de la maduració del cartílag de creixement. El límit entre cartílag i os és ondulant per augmentar-ne la resistència a les forces de cizallament (Teshima 1999).



**Figura 2.** Estructura del cartílag articular.

### 1. Condròcits

El cartílag és un teixit relativament pobre en cèl·lules. Aquestes deriven de cèl·lules mesenquimals i durant el creixement formen la matriu cartilaginosa. Amb la maduració, la densitat cel·lular del cartílag disminueix però es manté relativament constant al llarg de tota la vida (Stockwell 1967). El metabolisme cel·lular està molt disminuït al cartílag articular adult però els condrocits encara són actius i responen a diferents estímuls com mediadors metabòlics (factors de creixement i interleukines) (Fukuda 1995), agents farmacològics, composició de la matriu, pressió mecànica i canvis en la pressió hidrostàtica. No responen a estímuls nerviosos, puix que el cartílag no està inervat, ni a estímuls immunològics perquè els monòcits i immunoglobulines queden exclosos d'aquest teixit pel seu volum.

Els condrocits apareixen en la fase de creixement de l'os a partir dels condroblastes, que deriven de les cèl·lules mesenquimals. En l'embrió, el mesènquima (o mesoderma) donarà lloc a les estructures de l'aparell locomotor. Allà on hi hagi d'haver una articulació, el mesènquima formarà una cavitat; i entre dues d'aquestes cavitats es formarà un os. En la formació de la cavitat articular primitiva sembla estar implicat l'àcid hialurònic, que gràcies a la seva capacitat de formar agregats de PG, captaria aigua per osmosi donant lloc a la cavitat (Craig 1990). En l'esbós cartilaginós dels òssos, les cèl·lules mesenquimals es diferencien cap a condroblastes (Hamerman 1970). En aquest procés sembla intervenir la BMP-2 (Bone Morphogenetic Protein) (Imhoff 2001). Els condroblastes secreten la matriu cartilaginosa, donant al teixit l'aparença que les cèl·lules hagin migrat a la capa superficial, on reben forces de

compressió més intenses que els donen el típic aspecte aplanat. Des de les capes profundes, els condroblastes es divideixen creant columnes de cèl·lules que es van separant progressivament d'aquella capa a mesura que el teixit s'engruixeix gràcies a la secreció de matriu per les pròpies cèl·lules (Archer 1994, Mankin 1962a). De fet, la secreció de matriu és el que va separant les cèl·lules fins que arriben a la maduresa i llavors es redueix dràsticament la seva activitat metabòlica, estabilitzant-se la quantitat de matriu al seu voltant. Aquest aïllament aparent dels condrocits va fer pensar que, amb la maduresa esquelètica de l'individu, no rebien nutrició i acabaven morint (Trueta 1968). Al voltant de les cèl·lules s'observa un halo pobre en col·lagen i ric en polisacàrids. Estudis experimentals demostren divisions mitòtiques de les cèl·lules cartilaginoses en animals immadurs, especialment a la capa transicional, i el cessament de les mitosis amb l'edat, substituïdes per divisions amitòtiques en animals adults (Calandruccio 1962, Mankin 1962a). Però en l'artrosi s'indueix una resposta reparadora per part dels condrocits que fa que es puguin dividir per mitosi, tal com s'ha demostrat utilitzant timidina tritiada (Hulth 1970).

## 2. Matriu cartilaginosa

La matriu cartilaginosa representa el 20-35% del teixit fresc total, formada en un 60% per fibres de col·lagen i en un 40% per un gel hidrofílic de proteoglicans. L'aigua representa un 65-80% del pes del teixit (Hesse 1990, Mankin 1997). Però la proporció dels principals components de la matriu varia de forma important entre articulacions i també dins de la mateixa articulació.

### 2.1 *Fibres de col·lagen*

El col·lagen és una proteïna fibril·lar amb unes fibretes que es disposen de manera diferent segons la funció biològica del tipus de teixit del que formen part. Però en tots els casos apareixen en microscopia electrònica amb unes estriacions característiques separades 60-70nm entre sí (Lehninger 1985). El col·lagen està format per tres cadenes polipeptídiques trenades (cadenes  $\alpha$ ) reunides en una triple hèlix que tenen petites seqüències no helicoidals als extrems. Les diverses molècules individuals de col·lagen es disposen de forma esglaonada en la fibra de col·lagen donant-li l'aparença estriada a la microscopia electrònica. L'estructura bàsica de tots els tipus de col·lagen és la mateixa però la presència de molècules de glúcids i pèptids, que suposen una interrupció en l'organització helicoidal de les fibres, diferencia els diferents tipus de col·lagen (Lane 1984). També es poden diferenciar per la composició de les tres cadenes  $\alpha$  de l'hèlix, que poden ser iguals o diferents entre sí ja que els col·làgens del cartílag estan codificats per 10 gens diferents a quatre cromosomes (Mankin 1997).

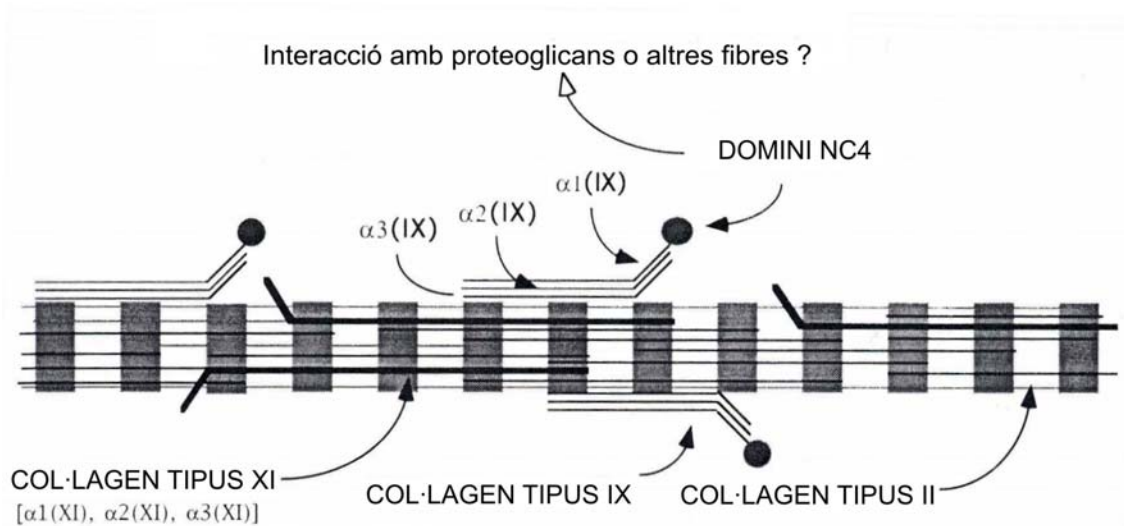
La mida de les fibres de col·lagen del cartílag oscil·la entre 10 i 100nm de gruix. La seva funció és proporcionar al teixit propietats tensils i fixar els PG a la matriu extracel·lular.

Les fibres de col·lagen formen més del 50% del pes sec del cartílag, i d'elles el tipus II representa el 90-95% (Mankin 1997). Aquestes fibres són més primes que les de l'os i els tendons, que són de tipus I. La seva funció és resistir forces de tensió i mantenir els PG dins la matriu. Les fibres del tipus I semblen estar presents en el cartílag només quan es produeix una degeneració i un intent de reparació amb fibrocartílag (Goldwasser 1982). Els tipus V, VI, IX, X i XI també són presents i

corresponen als col·làgens menors de la literatura de principis dels anys '80 (Németh-Csóka 1983).

A partir dels treballs de Benninghoff el 1925 es va pensar que tenien una estructura en arc que els donaria una resistència a la tensió i la pressió. Estant clavades a la zona calcificada, travessarien verticalment la capa radial per incurvar-se a la transicional i esdevenir horitzontals a la capa superficial; llavors descendirien de forma obliqua un altre cop per la capa transicional per tornar a ser verticals a la radial i tornar-se a clavar a la capa calcificada sense arribar a l'os subcondral (Bullough 1984). Però malgrat l'atractiu d'aquesta teoria, estudis més recents (Jeffery 1991) han demostrat que és una estructura menys organitzada, sobretot a la zona transicional, on sembla haver-hi una distribució aleatòria de les fibres. De totes maneres, alguns autors (Rehak 1991) encara atribueixen a les arcades de col·lagen la resistència a la compressió.

Alguns estudis suggereixen que el col·lagen de tipus IX tindria una funció estabilitzadora unint fibres del tipus II. També aportaria ponts moleculars amb altres components de la matriu com els PG mitjançant un domini globular (figura 3) (Jacenko 1995).



**Figura 3.** Esquema de la relació entre els col·làgens de tipus II, IX i XI. (Jacenko 1995)

Els tipus VI i X no se sap quina funció tenen. El VI és a la càpsula pericel·lular dels condrons i podria tenir una funció en la unió del condrocit a la seva matriu pericel·lular. El X és a la zona calcificada profunda de les articulacions adultes i podria tenir un paper en la mineralització del cartílag per sobre de l'os subcondral. S'ha observat un augment en la síntesi del col·lagen de tipus X per part dels condrocits del cartílag artròsic però no sabem si es tracta d'un factor més en el desenvolupament de l'artrosi o bé una conseqüència d'aquest procés en l'activitat sintètica de la cèl·lula cartilaginosa. En aquest sentit, s'ha considerat un marcador del canvi fenotípic del condrocit cap a un estat hipertròfic (von der Mark 1992).

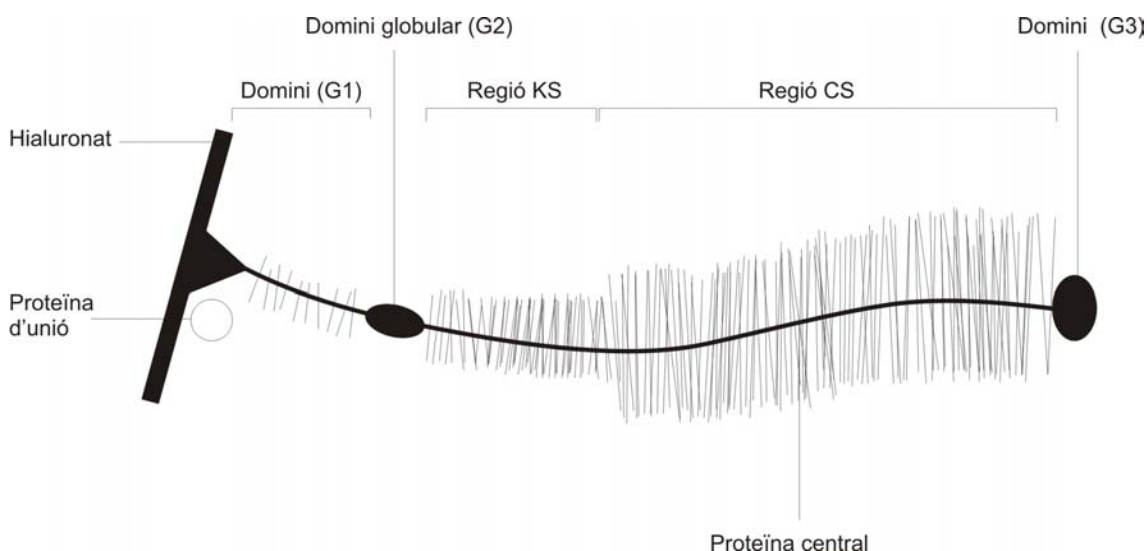
El col·lagen de tipus XI és semblant i està barrejat amb les fibres de tipus II (von der Mark 1990). Els tipus IX i XI augmentarien la seva concentració en el cartílag artròsic (Németh-Csóka 1983).

Les fibres de col·lagen de les capes superficial i transicional adopten una estructura quaternària en làmines que són verticals a la capa transicional i es van curvant fins esdevenir horitzontals a la capa superficial per ser paral·leles a la superfície articular (Clark 1990, Jeffery 1991). A la zona radial, les columnes de cèl·lules es situen entre les làmines. Les fibres de col·lagen es poden comprimir o descomprimir per forces tant mecàniques com osmòtiques.

## 2.2 Proteoglicans

Els proteoglicans (PG) representen el 3-10% del pes humit del cartílag (Hesse 1990). Estan formats per un nucli proteic al que s'uneixen cadenes de polisacàrids sulfatats o glucosaminoglicans (GAG). Els GAG estan formats principalment per unitats de 4-sulfat de condroitina, 6-sulfat de condroitina i queratan sulfat. El tipus de proteïna dels proteoglicans ens permet dividir-los en agregans (que té una proteïna d'uns 400nm) i molècules més petites. Els agregans inclouen una proteïna d'alt pes molecular i representen el 80-90% dels proteoglicans. El biglicà, la decorina i la fibromodulina tenen una proteïna de menys pes molecular.

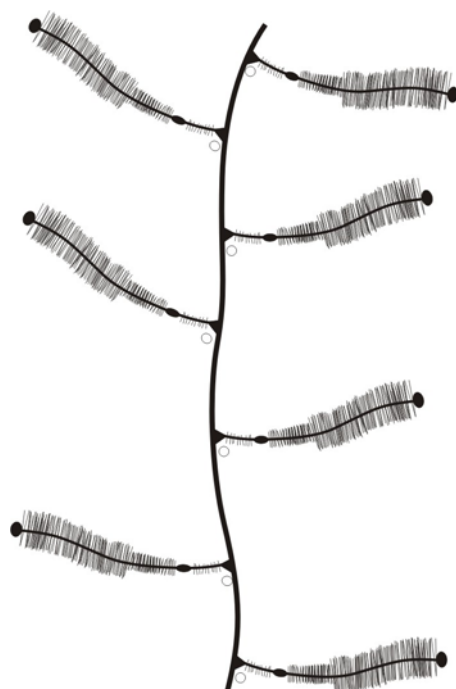
La molècula d'agrecà (figura 4) està formada per una cadena central proteica que podem dividir en diferents dominis. Els GAG que s'uneixen a aquesta proteïna són el queratan sulfat i el condroitin sulfat. A l'extrem N-terminal, la proteïna central té un domini globular (G1) per unir-se a l'hialuronat; després un segon domini globular (G2) de funció desconeguda. A continuació té un domini ric en queratan sulfat, després un domini on predomina el condroitin sulfat amb algunes cadenes de queratan sulfat.



**Figura 4.** Molècula d'agrecà amb la cadena proteica central, a la que estan unides les molècules de queratan sulfat (KS) i condroitin sulfat (CS), unida a una cadena d'hialuronat.

Després tindriem un tercer domini globular (G3) amb l'extrem C-terminal. L'agrecà en conjunt contindria unes 100 cadenes de condroitin sulfat i unes 50 de queratan sulfat. La cadena central també tindria units alguns oligosacàrids petits. L'extrem N-terminal s'uneix a la molècula d'hialuronat i una proteïna d'unió estabilitza aquest enllaç. Com que la cadena d'hialuronat és llarga i no ramificada (també és un GAG), moltes molècules d'agrecà es poden unir a una sola cadena d'hialuronat per formar un agregat gran de proteoglicans (figura 5). Cadascun d'aquests agregats pot contenir 200 molècules d'agrecà però la mida varia amb l'edat i situacions patològiques. Es pensa que formant aquestes grans molècules, els proteoglicans queden immobilitzats dins la xarxa de col·lagen del cartílag (Mankin 1997).

Els proteoglicans petits representen una part petita de la massa total de proteoglicans del cartílag però n'hi ha una gran varietat i la seva funció encara no ha estat definida en molts casos. El biglicà i la decorina són uns proteoglicans del cartílag amb una proteïna central més petita que l'agrecà. Les dues tenen forma de ferradura (Scott 1996). El biglicà conté dues cadenes de dermatan sulfat i la decorina només una. Aquesta darrera es troba a la superfície de les fibretes de col·lagen i hom pensa que està implicada en el control de la gènesi de les fibretes. D'altra banda, s'ha demostrat que la decorina pot inhibir la resposta inflamatòria produïda per TGF- $\beta$  unint-se a aquest mediador químic de la inflamació (Akeson 2001). El biglicà es troba al voltant de les cèl·lules (Svenson 1995) i podria estar implicat en l'organització de la matriu pericel·lular i la protecció mecànica de la cèl·lula (Little 1996). Representa el PG de baix pes molecular més abundant al cartílag articular adult (McAlinden 2001).



**Figura 5.** Estructura d'un agregat de proteoglicans (PG) amb una proteïna central a la que estan unides moltes molècules d'agrecà.



La relació entre col·lagen i proteoglicans també es veu al col·lagen tipus IX que sol tenir una cadena de condroitin sulfat que el converteix també en un proteoglicà (Jacenko 1995).

Les cadenes de GAG unides a un nucli proteic per formar els proteoglicans estan formades, per la seva part, per unitats repetides de disacàrids. Aquests poden ser de 3 tipus: isòmers de 4 i 6-sulfat de condroitina, queratan sulfat i dermatan sulfat. El més abundant, representant del 55 al 99% del total, és el condroitin sulfat; forma cadenes de 25-30 unitats. El dermatan sulfat té una estructura semblant al condroitin sulfat però amb residus de glucuronat epimeritzats a iduronat (Roughley 1989).

L'hialuronat també és un GAG però no està sulfatat, a diferència dels anteriors. És una cadena no ramificada que serveix d'ancoratge pels agrekans.

Els glucosaminoglicans tenen grups carboxil (COOH) i sulfat (SO<sub>4</sub>) que confereixen una càrrega negativa a la molècula quan s'ionitzen. Això atrau ions Na i Ca per mantenir l'electroneutralitat, i força l'entrada d'aigua al teixit. Els PG estan comprimits dins l'esquelet de col·lagen, reduint la possibilitat de moviment d'ions i aigua. Segons Hedlund (1999), la fibra de col·lagen podria fins i tot actuar com una espina dorsal del complex d'agrecà a la qual estarien unides diverses molècules d'agrecà a través de la seva zona rica en queratan sulfat. La unió dels proteoglicans al col·lagen li permet mantenir la posició a l'espai i evitar la seva calcificació. Tot plegat fa del cartílag una matriu porosa permeable.

La distribució dels proteoglicans al cartílag no és homogènia. Són escassos a la zona superficial i la seva concentració és més alta a la zona transicional. A la zona profunda la distribució no és tant homogènia com a la transicional. Però la seva concentració és més alta immediatament al voltant dels condrocits; però a totes les capes varia molt amb l'edat i la malaltia, a l'igual que el tipus de PG. A les capes més superficials hi ha PG més grans que contenen més 4-sulfat de condroitina i a les més profundes PG més petits amb queratansulfat (Jones 1977, Venn 1979). La concentració de PG també està relacionada amb la càrrega que rep cada regió del cartílag, i així, és més alta on el teixit rep més pressions (zones de càrrega), i la composició també varia, amb un augment del queratan sulfat respecte a condroitin sulfat al teixit amb més càrrega (Yoshida 1982).

La síntesi de PG es produeix al condrocit amb la transcripció de la fracció proteica, controlada genèticament, i continua amb la glicosilació que augmentarà varies vegades el seu pes molecular. Aquest darrer procés no està controlat tant estrictament pels gens i permet una variació més gran en la composició final del PG, la seva estructura i distribució. Aquesta variabilitat es veu sobretot a l'artrosi, a algunes malalties i amb l'edat (Buckwalter 1993). Finalment, els PG abandonen la cèl·lula per formar matriu extracel·lular. Amb l'edat, aquests PG i els agregats que formen pateixen una disminució de mida, del contingut de condroitin sulfat, augment del contingut de queratan sulfat i un alteració de les proporcions de les molècules que formen els agregats (Miralles 1991).

Els mecanismes de control de la síntesi de PG són molt sensibles a estímuls bioquímics, mecànics i físics.

Al cartílag sa, els PG es secreten i destrueixen contínuament. La creació i destrucció de la matriu cartilaginosa és part del *turn over* o recanvi fisiològic dels teixits. En processos degeneratius articulars, sembla que predomina el catabolisme. S'ha demostrat que la immobilització i els estímuls bioquímics com la interleukina 1 augmenten el catabolisme.

Els PG representen el 5-10% del pes del teixit fresc. Són grans molècules que actuen com una molla, deformant-se sota pressió i, quan cedeix, recuperant la seva forma original. Això contribueix a la propietat del cartílag anomenada elasticitat.

Les macromolècules de la matriu cartilaginosa tindrien un paper en el manteniment de l'equilibri hídric amb el líquid sinovial articular. La presència de molècules d'alt pes molecular augmenta la pressió osmòtica que arrossega aigua dins la matriu. La pressió creada per la presència d'aigua al teixit és compensada per la força tensil de les fibres de col·lagen per evitar la disgregació del cartílag.

La capacitat dels PG d'atraure aigua es relaciona amb tres fets: la pressió osmòtica i les forces de repulsió electrostàtica entre molècules de PG carregades negativament ja esmentades, a les que s'afegeix la capacitat entròpica dels PG d'augmentar el seu volum en dissolució.

### 3. Aigua

L'aigua és el component principal del cartílag, formant el 65-80% del seu pes fresc. Aquesta proporció pot augmentar a fases inicials de l'artrosi fins el 90% abans de la disgregació del teixit. Aquesta aigua conté substàncies minerals en dissolució com sodi, potassi, calci i clor.

La major part d'aigua és a la matriu extracel·lular i una petita part és intracel·lular. Un 30% s'associa a l'espai intrafibril·lar dins el col·lagen.

El contingut hídric disminueix del 80% a la superfície fins al 65% a les capes profundes.

Quan augmenta la pressió sobre el cartílag, la pressió osmòtica no és prou alta per retenir l'aigua dins el cartílag i en surt fins assolir un nou equilibri. Quan la càrrega sobre el cartílag deixa d'actuar, les forces osmòtiques de la matriu tendeixen a recuperar l'aigua fins arribar de nou a un equilibri. Els canvis en les condicions de pressió fan entrar o sortir aigua del teixit quan es creen gradients. Això pot tenir lloc quan es produeix un augment de pressió mecànica no compensada per la pressió osmòtica que crearà un flux d'aigua fora del cartílag o un descens que comportarà un augment relatiu de la pressió osmòtica que porta l'aigua dins el teixit. Però aquest flux d'aigua es dona a través de porus moleculars del cartílag que oposen una resistència al flux. Aquesta resistència friccional confereix una baixa permeabilitat al cartílag. Aquest fet, amb la pressurització d'aigua dins el cartílag, li aporta una gran resistència a la pressió.

El flux d'aigua serveix de mitjà de transport de factors nutritius pel cartílag i com a lubricació de l'articulació.

#### 4. Líquid sinovial

El sistema sinovial de l'articulació relaciona la membrana sinovial, el líquid sinovial i el cartílag en la doble funció de subministrar nutrició al cartílag i disminuir les forces de fricció entre les superfícies articulars. El líquid sinovial es produeix per 3 mecanismes:

- diàlisi del plasma sanguini permetent el pas d'elements de baix pes molecular
- selecció de macromolècules per un procés de filtració
- síntesi d'àcid hialurònic per part de cèl·lules sinovials (cèl·lules B).

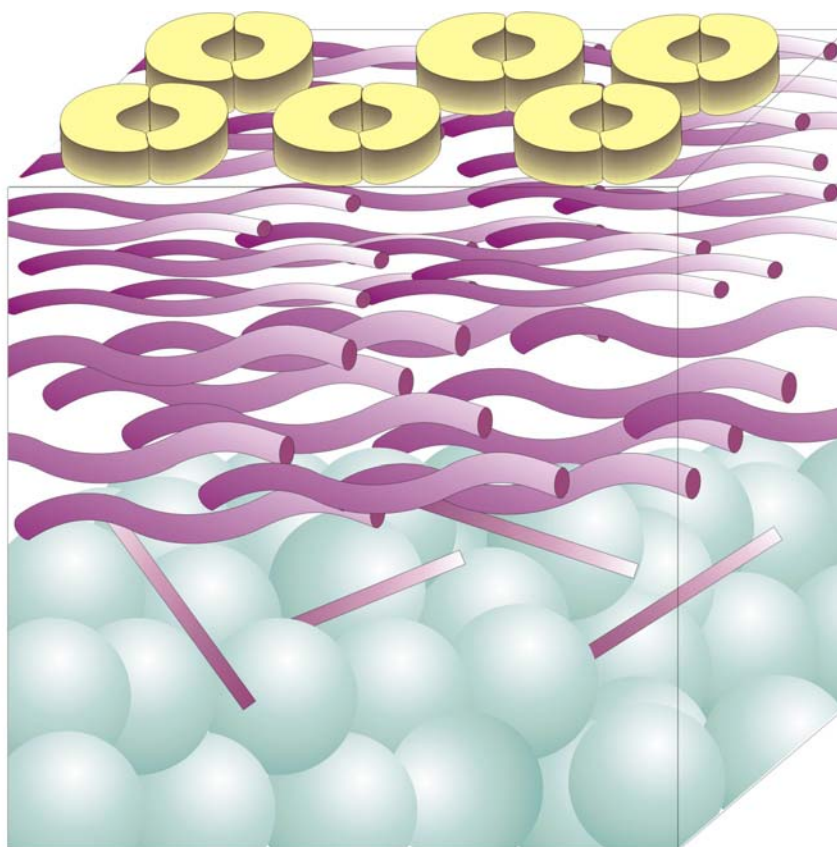
Per tant el líquid sinovial està format per un ultrafiltrat plasmàtic, macromolècules filtrades per la membrana sinovial i àcid hialurònic secretat per cèl·lules sinovials. Aquesta composició li permet tenir una funció lubricant i una de transport de nutrients cap al cartílag a través d'un sistema de bombejat passiu. A l'adult, aquest sistema de nutrició és únic mentre a l'organisme en creixement també és possible a través de vasos que arriben a la capa més profunda del cartílag.

El mecanisme de nutrició passiva depèn de la mida dels porus, estructura de la molècula, la seva càrrega elèctrica i el gruix del cartílag.

#### 5. Superfície articular

MacConail el 1951 descriu amb microscopia òptica la presència d'una línia brillant a la superfície del cartílag que va anomenar *lamina splendens* i de la qual en va parlar la literatura durant força temps. Posteriorment es va demostrar que de fet no tenia una existència real sinó que es tractava d'un artefacte degut a la tècnica utilitzada (Sokoloff 1969). S'ha justificat aquest fet per la diferència en els índex de refracció de les vores del tall histològic (Cebamanos 1992).

Abans dels estudis amb el microscopi electrònic de superfície, es pensava que la superfície del cartílag articular era absolutament llisa. Amb aquesta tècnica es va posar de manifest l'existència d'unes irregularitats a la superfície del cartílag hialí donant-li l'aspecte descrit pels autors anglosaxons de "humps and pits" (Redler 1970). Posteriorment s'ha vist que el que es veia eren artefactes deguts a la tècnica de preparació del teixit per a la microscopia electrònica (Milgram 1990a). Però a més gran augment s'han trobat unes estructures amb forma de grànuls (Stanescu 1985). Es tractaria d'uns porus voltats per molècules globulars que regularien el pas augmentant o disminuint la llum de pas (figura 6). Les molècules petites –amb un radi de 0'3 a 0'5nm- passarien lliurement mentre les de mida superior, fins a un cert límit, passarien segons la llum que deixessin les molècules globulars (Hesse 1990).



**Figura 6.** Esquema de la superfície articular del cartílag.

## **BIOMECÀNICA DEL CARTÍLAG ARTICULAR SA I ARTRÒSIC**

El cartílag articular té una funció biomecànica principal que consisteix en permetre el moviment entre els ossos produint el mínim fregament possible. Però en les articulacions de les extremitats inferiors, per exemple, ha de ser capaç de mantenir aquesta funció estant sotmès a una càrrega.

El cartílag articular és una estructura que ha de suportar pressions i tensions de forma estàtica, cíclica i repetida durant un temps molt llarg. Això requereix certes propietats que ha de tenir la matriu que li són conferides per la seva composició d'aigua i teixits tous constituint un model bifàsic. El material orgànic constitueix una sòlida xarxa al cartílag amb la formació de microporus que s'omplen d'aigua fins arribar al 65-80% del pes total del teixit. Els canvis de pressió osmòtica i mecànica sobre el cartílag causen un flux d'aigua entre els microporus. Per tant podem parlar d'una fase sòlida i una líquida al cartílag, que es podria comparar amb una esponja plena d'aigua que presenta un comportament viscoelàstic (Viladot 2001). La presència d'aigua és fonamental per la seva funció, per tant qualsevol estudi experimental ho haurà de tenir en compte i el model que es faci servir ha de ser el més similar possible al teixit viu.

## 1. Permeabilitat del cartílag articular

El cartílag, gràcies al seu contingut en proteoglicans que atrauen l'aigua cap al seu interior, es troba hiperhidratat i constitueix un teixit pressuritzat que pot arribar a tenir 2 atmosferes de pressió hidrostàtica. Els PG combinats amb aigua augmenten molt el seu volum però la xarxa col·làgena limita aquesta expansió de volum a un 20% (von der Mark 1990). La xarxa col·làgena immobilitza els PG, estableix la seva pressió osmòtica i, en conseqüència, es veu sotmesa a forces de tensió.

Molts estudis han demostrat la permeabilitat a l'aigua del cartílag, però aquesta és baixa perquè el teixit ofereix una resistència important al pas de fluid al seu través. Quan es produeix un gradient de pressió hi ha una proporció lineal entre la quantitat d'aigua que es desplaça i el gradient de pressió existent. Aquest moviment d'aigua a través del cartílag produeix forces de fricció que s'hi oposen. Per tant, resulta que calen gradients de pressió molt alts per desplaçar l'aigua a través del cartílag. El grau de permeabilitat encara disminueix més amb l'increment de la pressió i la deformació. La força compressiva augmenta la pressió intersticial forçant l'aigua fora del teixit. Però aquesta sortida d'aigua és limitada també per les forces de fricció que s'oposen al flux. Això representa un mecanisme d'autoprotecció del cartílag per evitar quedar-se sense líquid intersticial, i és important per mantenir la nutrició i el trofisme del teixit, la lubricació de l'articulació i la transmissió de càrregues al seu través.

La permeabilitat del cartílag disminueix amb la compressió però no d'una manera lineal. Això vol dir que quan hom augmenta la pressió sobre el cartílag, inicialment, una quantitat important d'aigua pot sortir del teixit però, si aquesta força persisteix, no produeix una sortida contínua d'aigua degut a la pèrdua de permeabilitat. Aquest mecanisme permet que el cartílag resisteixi pressions contínues cícliques dissipant la pressió pel teixit quan és necessari i recuperant les seves propietats inicials fàcilment per poder rebre una altra força de compressió. Aquesta reducció de permeabilitat es pot explicar per dos factors:

1. la compressió del teixit redueix el contingut hídric
2. l'increment de densitat de càrregues dels PG.

Per tant un increment de la concentració de PG reduiria la permeabilitat. Així podem dir que hi ha una forta relació entre la permeabilitat i el contingut hídric, i una relació inversa entre la permeabilitat i el contingut de PG.

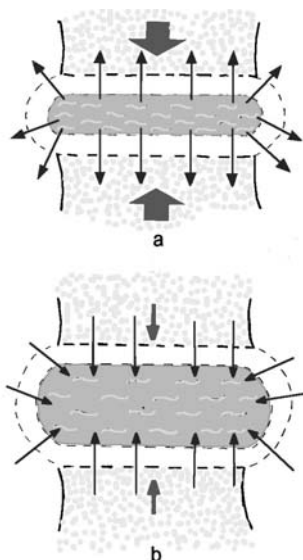
Quan cedeix la compressió, el cartílag torna a hidratar-se i la pròpia pressió osmòtica fa que les fibres col·lagenes recuperin la seva forma inicial (figura 7).

Existeixen, doncs, dos mecanismes per desplaçar l'aigua del cartílag: la compressió del teixit creant un gradient mecànic i la pressió osmòtica.

## 2. Elasticitat del cartílag dependent del flux en compressió

Quan sotmetem el cartílag a una força de compressió es produeix una deformació macroscòpica ocasionada per la deformació de les seves fibres col·lagenes,

un increment de la pressió local i, gràcies a la permeabilitat del teixit, una exudació de líquid cap a les zones no comprimides i a l'espai articular.



**Figura 7.** Efecte de la càrrega i l'osmolaritat del cartílag en l'entrada i sortida d'aigua del teixit.  
 a) Les fletxes grosses i curtes indiquen una càrrega que fa sortir aigua del teixit (fletxes llargues). b) Inversió del flux d'aigua en disminuir la càrrega.

Degut a la baixa permeabilitat del cartílag, la seva resposta viscoelàstica depèn de la velocitat amb què s'apliqui una càrrega. Si s'aplica de forma constant durant un temps perllongat, per exemple a la bipedestació, la deformació augmentarà de forma progressiva a mesura que s'expulsa el líquid intersticial a l'exterior. Quan deixa d'actuar la càrrega, si l'articulació reposa prou temps i tenim prou líquid articular, el cartílag recupera la seva forma inicial (Hall 1963).

Si la càrrega s'aplica de forma puntual, per exemple fent un salt, no passa prou temps per que es produeixi l'exudació del teixit. En aquest cas el cartílag es deformarà i recuperarà de manera instantània.

En el cas d'una càrrega perllongada, el cartílag es comporta com un material viscoelàstic i amb una càrrega puntual, com un material elàstic.

L'elasticitat es una propietat del cartílag que li permet canviar la forma en el temps quan se li aplica una força compressiva. Quan es comprimeix el cartílag augmenta la seva deformació amb el temps fins assolir un equilibri. En comprimir el teixit, la tensió dins la matriu augmenta fins a arribar a l'equilibri. Aquesta viscoelasticitat del cartílag depèn de dos factors, un d'ells dependent del flux d'aigua i l'altre independent produït per la fricció intermolecular. El mecanisme dependent del flux es el que contribueix més a la viscoelasticitat i depèn, a més a més del flux d'aigua, de la pressurització d'aigua intersticial.

L'aigua del cartílag és la que suporta la pressió quan aquesta comença a actuar sobre el teixit, però amb el temps aquesta pressió és transferida de la fase líquida a la

sòlida. Quan s'arriba a l'equilibri, la fase sòlida del cartílag suporta tota la pressió, és a dir, la matriu cartilaginosa formada per col·lagen i PG. El temps necessari per arribar a aquest equilibri és bastant llarg i s'ha calculat en 3 a 5,5 hores. Considerant aquest càlcul hem de considerar que el cartílag està sempre carregat d'aigua per resistir la pressió en condicions fisiològiques. Per tant, l'equilibri del què parlàvem no arriba mai perquè les articulacions estan sempre en moviment, fins i tot durant el son. Però quan s'immobilitzen les articulacions de forma perllongada en el temps (Salter 1980), i encara més si s'hi apliquen unes càrregues excessives (Trias 1961), el cartílag perd la seva font de nutrició, les cèl·lules moren i es produeix la degeneració del cartílag donant lloc a un procés artròsic.

A fases inicials de l'artrosi s'ha trobat un augment del contingut d'aigua i una disminució de PG; però a fases més avançades el teixit cartilaginós perd aigua. Aquests canvis augmenten la permeabilitat del teixit i disminueixen el mecanisme de pressurització que normalment absorbeix la majoria de forces de pressió. Això fa que aquestes forces es transmetin a la fase sòlida formada per col·lagen i PG. Això podria explicar finalment perquè el cartílag artròsic rep més pressions i degenera més ràpidament.

Les característiques biomecàniques del cartílag varien entre les diferents articulacions d'un mateix individu i fins i tot entre les diferents capes del teixit. Així, s'ha vist per una banda que la matriu extracel·lular del cartílag a la superfície articular de l'astràgal és més densa, amb un major contingut de GAG i menys aigua que el cartílag articular femorotibial i patelofemoral; i per una altra banda s'ha vist que el cartílag articular de la capa superficial es significativament més tou que les capes més profundes, que indiquen la importància de la deformabilitat de les capes superficials durant la càrrega (Treppo 2000). Però l'especial constitució del cartílag amb una matriu porosa, permeable i tova, li dona les característiques de solidesa, resistència a la fatiga i al fregament.

Finalment cal recordar que el cartílag és un material anisotròpic, que vol dir que es deforma de manera diferent en funció de la direcció de la càrrega rebuda i de les diferents concentracions de fibres col·lagenes que conté la seva estructura.

### 3. Propietats viscoelàstiques de fregament del cartílag articular independents del flux

El cartílag articular permet que el fregament entre les dues superfícies articulars d'una articulació sigui mínim gràcies a les propietats del teixit i a la lubricació d'aquestes superfícies.

Pel que fa a les propietats del teixit, s'ha demostrat en experiments dinàmics de cizallament pur, en que no es produeix flux de líquid intersticial perquè no es creen gradients de pressió ni canvis de volum al teixit, que en comprimir el cartílag articular contra l'os, la tensió de fregament arriba a un valor màxim a la *tidemark*. En aquest cas l'efecte de la compressió també és no lineal. Si les càrregues de compressió són elevades poden lesionar fibres i xarxa col·làgena a la superfície articular i fins i tot arriba a separar el cartílag articular de l'os. Les diferències de rigidesa entre matriu-proteoglicans-col·lagen i les xarxes en solució de proteoglicà-proteoglicà és de  $10^5$  vegades més gran per la primera. Aquests resultats indiquen que les segones afegeixen poc a la rigidesa del cartílag articular i que les propietats de rigidesa i dissipació de

l'energia en cizallament depenen de l'estructura de proteoglicans-col·lagen present en el teixit i no de la xarxa de proteoglicans-proteoglicans. Per tant és més probable que la capacitat dels proteoglicans de formar xarxes estigui dissenyada per mantenir la forma espacial de la xarxa de col·lagen a la matriu extracel·lular i no per proporcionar una rigidesa considerable durant el cizallament.

#### 4. Propietats tensils del cartílag articular

En experiments de baixa taxa de tracció s'anul·len ambdós mecanismes de viscoelasticitat i es pot determinar la resposta tensil intrínseca de la matriu sòlida col·lagen-proteoglicans. La porció lineal de la corba de deformació (mòdul tensil) reflecteix la rigidesa de la xarxa de col·lagen en tensió. Les mostres de zona superficial del cartílag articular són més rígides que les de les zones mitja i profunda per l'alta concentració i grau d'orientació de les fibretes de col·lagen de la zona. La rigidesa a tensió disminueix amb els canvis degeneratius i la fibrilació. Els mòduls tensils del cartílag humà es correlacionen amb el contingut de colagen i l'índex de colagen-PG del teixit.

### **FISIOLOGIA DEL CARTÍLAG ARTICULAR SA I PATOLÒGIC**

Els primers estudis sobre la fisiologia del cartílag articular van fer pensar en una activitat metabòlica molt baixa degut al baix consum d'oxigen comparat amb altres teixits tot i tenir un sistema glicolític ben definit. Més tard es va determinar que aquesta diferència és deguda a l'escassa cel·lularitat del cartílag però no a poca activitat metabòlica. De totes maneres està prou clar que el cartílag utilitza la via anaeròbia com a font principal d'energia (Mankin 1997). Els condrocits sintetitzen els components de la matriu cartilaginosa i dirigeixen la seva distribució al teixit.

El manteniment d'una matriu cartilaginosa normal depèn del manteniment de l'equilibri entre síntesi i degradació per part dels condrocits. Cal mantenir una taxa de síntesi suficient de components sans de la matriu que es puguin ensamblar de forma correcta i compensin la degradació i pèrdua de materials del teixit. Per aquest procés les cèl·lules depenen del seu ambient químic i mecànic. En aquest equilibri hi intervenen actuant sobre el condrocit mediadors químic (factors de creixement, interleukines), la composició de la matriu, càrregues mecàniques, canvis de pressió hidrostàtica i camps elèctrics. L'activitat normal del condrocit manté un teixit cartilaginós sa però, en algunes circumstàncies, pot alterar-se l'equilibri i portar a un canvi en la composició i organització ultraestructural del cartílag que el porti a la degeneració.

#### 1. Síntesi de proteoglicans

La síntesi dels proteoglicans a la cèl·lula comença a nivell molecular amb la transcripció controlada genèticament de l'ADN a ARNm i d'aquest a la cadena d'aminoàcids als ribosomes del reticle endoplàsmic. La cadena passa a l'aparell de Golgi on s'afegeixen les cadenes de GAG. La regulació d'aquest darrer procés no és ben coneguda però s'ha vist que les cadenes de condroitin sulfat i dermatan sulfat s'uneixen a residus específics de serina en una seqüència determinada mentre les cadenes de queratan sulfat s'uneixen a una serina o una treonina en una seqüència diferent. Mentre es va allargant la cadena de GAG es van sulfatant els residus



hexosamina del condroitin, dermatan i queratan sulfat. El procés de sulfatació dels GAG es produeix al complex de Golgi, tal com s'ha comprovat amb estudis de sulfat S<sup>35</sup> (Milgram 1990a). Tots aquests passos són reaccions enzimàtiques que no estan sota un control genètic directe i per això la longitud de les cadenes de GAG és variable. Quan acaba la glicosilació es secreten les molècules a la matriu extracel·lular. Com que la proteïna central pot representar només el 10% de la molècula completa, l'addició de cadenes de GAG sense un control tant estricte ofereix la possibilitat d'una gran variació en la composició final de la molècula. Això es pot apreciar durant l'envelliment i la malaltia.

Els mecanismes de control de tot aquest procés són molt sensibles a estímuls bioquímics, mecànics i físics. Entre ells cal destacar lesions per laceració, artritis, alteració de la pressió intersticial, càrrega, tracció i fluxos tissulars, canvis en la tensió d'oxigen, alteracions del pH, concentració de calci, hormones de creixement, ascorbat, vitamina E, cortisol, prostaglandines, difosfonats, salicilats i altres antiinflamatoris no esteroïdals, hialuronat, difosfat d'uridina, xilòsid.

La càrrega és un dels factors fisiològics més importants. S'ha vist que afecta de forma diferent les diferents capes del cartílag i el seu efecte també varia segons l'edat de l'organisme. Bàsicament, s'ha vist que la càrrega estàtica disminueix la síntesi de GAG mentre la càrrega dinàmica o cíclica n'augmenta la síntesi (Li 2001).

La rapidesa en la síntesi d'una petita part de proteoglicans és molt superior a la necessària per un recanvi per desgast en un teixit adaptat precisament per evitar fregaments, i fa pensar en l'existència d'un complex sistema intern de regulació de la síntesi de proteoglicans.

## 2. Catabolisme dels proteoglicans

Al teixit cartilaginós se es produeix una degradació i alliberament dels proteoglicans del teixit dins un procés de reparació i recanvi per mantenir un teixit normal. Però els processos catabòlics també poden estar augmentats com passa amb el procés degeneratiu del cartílag. El catabolisme pot estar influït per mediadors solubles (la interleukina 1 l'accelera) i canvis en la càrrega sobre el cartílag (la immobilització provoca una pèrdua de proteoglicans).

L'agregat de proteoglicans es divideix en fragments en el procés de degradació. Aquests fragments difonen a través del teixit fins el líquid sinovial. Allà són captats pel sistema limfàtic sinovial i es poden trobar cadenes de glicosaminoglicans al llarg d'aquest sistema, en sang circulant i fins i tot l'orina. El nivell de concentració d'aquestes molècules es pot quantificar i es pensa que la seva determinació en líquid sinovial indicaria l'activitat catabòlica del cartílag d'aquella articulació concreta. De moment aquestes dades no representen una ajuda en el diagnòstic ni en l'establiment d'un pronòstic de la malaltia articular degenerativa.

## 3. Síntesi de col·lagen

L'estoc de col·lagen al cartílag és molt més estable que el de proteoglicans i el seu recanvi molt més lent. Però la seva síntesi augmenta en al cartílag artròsic o quan s'hi produeix una laceració (Repo 1971). La síntesi de la molècula de col·lagen tipus II i

XI comença amb la transcripció genètica del ADN a ARNm i la traducció d'aquest a la cadena d'aminoàcids als ribosomes del reticle endoplàsmic. La cadena es glicosila a l'aparell de Golgi i després de la hidroxilació de prolina i lisina, glicosilació de la lisina i formació de la triple hèlix s'excreta de la cèl·lula a la matriu extracel·lular. En aquest medi es formen nous enllaços per ensamblar-se en l'estructura fibril·lar. Altres tipus de col·lagen pateixen els canvis de la cadena polipeptídica només fora de la cèl·lula.

La consideració dels condrons com la unitat funcional del cartílag ha fet desenvolupar una teoria sobre el funcionament d'una microcirculació de fluid entre la cèl·lula i la resta de la matriu del cartílag que portaria les molècules sintetitzades pel condrocit a la matriu, a distància de la cèl·lula on han estat produïdes (Poole 1997).

#### 4. Catabolisme del col·lagen

Se sap molt poc de la degradació del col·lagen. És un procés lent que s'accelera en el cartílag degeneratiu. El seu mecanisme pot ser enzimàtic a través d'una metal·loproteasa o mecànic.

#### 5. Nutrició

El cartílag és un teixit avascular. S'accepta que la nutrició del cartílag adult li arriba a través del líquid sinovial (Brower 1962) que s'escola pels miroporus del teixit. Treballs experimentals en animals joves han demostrat també que la nutrició es possible a través de la unió entre os i cartílag, però aquest mecanisme no existeix a l'adult (Mankin 1997, Maroudas 1968, Rehak 1991).

La nutrició del cartílag adult a través d'aquests petits porus de la superfície del teixit només la poden dur a terme petites molècules que triguen de 10 segons a una hora per travessar depenent del pes molecular, estructura, mida i càrrega elèctrica de la molècula. Les molècules petites que actuen com a missatgers químics, així com també els productes dels catabolisme dels PG, semblen capaces de moure's prou de pressa a través del teixit.

Per microscopia electrònica s'ha demostrat la presència de grànuls a la superfície del cartílag que contenen niu de fibretes i porus d'un radi de 0,3 a 0,5 nm. Els grànuls, formats per PG, àcid hialurònic i probablement fibronectina, permeten la lliure circulació de partícules petites. La pèrdua de PG eixampla els porus permetent el pas de molècules més grans, algunes de les quals poden lesionar el cartílag (Rehak 1991).

El cartílag tampoc conté teixit nerviós. Això vol dir que la informació de l'estat de tot l'organisme li arriba al cartílag només a través de missatgers químics. També s'ha demostrat que el cartílag és sensible a factors mecànics com els canvis de pressió que poden canviar la seva activitat metabòlica afectant finalment les seves propietats biomecàniques. Així, tant la càrrega com la descàrrega de l'articulació sembla que canvien l'activitat metabòlica. El mecanisme pel qual aquests estímuls afecten l'expressió de gens específics és desconegut.

La pressió i el moviment són necessaris a una articulació per mantenir la composició, estructura i propietats mecàniques del cartílag articular normal a l'adult. El tipus, intensitat i freqüència d'aquestes forces necessàries per mantenir un cartílag

articular normal és variable però quan la intensitat o freqüència d'aquestes forces supera un màxim o no arriba a un mínim, es produeix un desequilibri entre síntesi i degradació que produeix canvis a l'estructura del cartílag. Quan s'immobilitza una articulació, per exemple amb un guix, es produeixen alteracions al cartílag articular (Salter 2000).

A les zones de contacte entre les dues superfícies articulars, es produeixen lesions degeneratives com la necrosi dels condrocits d'aquesta zona (Roy 1970). La immobilització o la pressió excessiva poden lesionar els grànuls, portant fins i tot a la seva desaparició. Això augmentaria el diàmetre del porus i permetria el pas de molècules grans. Així poden arribar elements tòxics al teixit, susceptibles de causar lesions a les cèl·lules i la matriu sense la intervenció d'enzims. A això s'hi afegeix una alteració dels equilibris de pressió. Molècules grans augmenten l'osmolaritat del teixit induint l'entrada d'aigua, edematitzen el teixit i creen unes forces de tensió excessiva que trenquen les fibres de col·lagen i desorganitzen el teixit. El grau de lesió depèn de la durada i intensitat de la pressió mecànica sobre el cartílag.

A altres zones sense contacte entre les superfícies articulars, es produeix la degeneració del cartílag com a conseqüència de la manca de nutrició. En aquestes zones es produeix una disminució a la síntesi i contingut de PG i canvis en la seva conformació a més a més de la reducció en la mida i quantitat de l'agregat. Treballs experimentals han demostrat que després de 4 setmanes d'immobilització es produeix un augment del contingut hídic, reducció del contingut de PG, reducció de la síntesi de PG i canvis en la seva conformació. El col·lagen no es veu afectat en aquesta fase.

Els canvis biomecànics i bioquímics són reversibles quan l'articulació comença a moure's un altre cop però el grau de recuperació disminueix si el període d'immobilització és molt llarg. La pressió excessiva, sigui per una força intensa única de durada limitada o traumatisme repetit, pot iniciar un procés degeneratiu al cartílag. L'exercici moderat pot augmentar el contingut de PG, disminuir el flux d'aigua durant la càrrega i augmentar el gruix del cartílag. Però un exercici massa intens pot produir fibril·lació de la matriu i una disminució de la concentració i mida de l'agregat. En experiments realitzats en gossos, no es van observar canvis significatius en les propietats mecàniques del cartílag abans de 30 setmanes (Mankin 1997).

La lesió de les estructures estabilitzadores de l'articulació com els meniscos i lligaments canvia les forces que actuen sobre una superfície articular de manera que indueixen canvis importantíssims en les propietats bioquímiques i mecàniques del cartílag articular. Això ha obert la porta al desenvolupament de diversos models experimentals per a l'artrosi inestabilitzant les articulacions. Aquestes lesions indueixen la fibril·lació del cartílag articular, un augment del contingut hídic, canvis del contingut de PG, engruiximent de la càpsula articular i formació d'osteofits. L'augment d'activitat dels condrocits es demostra per l'augment de síntesi dels components de la matriu i un augment de la seva degradació i secreció d'enzims proteolítics.

En conjunt sembla existir un augment net del catabolisme. No es coneix la forma que aquests factors mecànics influeixen el cartílag.

## 6. Lubricació

Una de les funcions del cartílag articular és permetre el moviment de l'articulació amb un mínim de desgast de les seves superfícies. Això ho aconsegueix amb una bona lubricació que bàsicament és de dos tipus:

1- lubricació per capa límit: consisteix en una monocapa de molècules de líquid sinovial que actuen com lubricant i estan adherides a les superfícies de contacte de forma que són les molècules les que llisquen unes sobre les altres. Aquesta lubricació és feble per suportar càrregues elevades amb forces de cizallament importants.

2- lubricació per pel·lícula de fluid: en aquest cas existeix una pel·lícula de líquid sinovial que separa les dues superfícies articulars. Aquesta capa és molt més espessa que la capa molecular, i la pel·lícula de líquid és la que suporta la càrrega.

Recentment, s'ha demostrat l'existència entre les superfícies articulars en contacte, en càrrega, d'una capa de líquid sinovial que actua com una pel·lícula lubricant (Clark 1999).

Si existeix un moviment perpendicular entre les dues superfícies articulars, apareix la lubricació per expressió, que consisteix en que el líquid és expulsat de l'espai entre les dues superfícies articulars. Aquest tipus de lubricació serveix per suportar càrregues elevades durant poc temps.

Quan es produeix un moviment tangencial entre les dues superfícies articulars, apareix una lubricació hidrodinàmica. En aquest cas el moviment tangencial forma una falca de líquid que per la seva viscositat s'introdueix a l'interior de l'espai existent.

A l'articulació la capa límit és la responsable d'evitar l'adherència entre les superfícies articulars i la seva abrasió, mentre que la pel·lícula de fluid és la responsable de suportar les càrregues.

El cartílag articular, essent tou, es pot deformar sota la pressió del líquid sinovial variant l'àrea de contacte. Això dóna lloc a la formació d'una pel·lícula més duradora, que és beneficiosa per suportar les càrregues a la superfície de contacte. D'altra banda, la penetració del líquid sinovial a l'interior de la matriu cartilaginosa com a conseqüència de les forces a què és sotmesa, té una importància fonamental pel metabolisme dels condrocits.

Recentment s'ha postulat l'existència d'una capa de surfactant entre les superfícies articulars cartilaginoses (Hills 1996). Clínicament, l'aparença clínica del cartílag articular sa és el d'una superfície encerada que faria pensar que estaria cobert per una pel·lícula hidròfoba, i que desapareix al cartílag artròsic. això sorprèn donada la naturalesa hidrofílica del teixit cartilaginós, però aquestes transicions de la superfície són un fet freqüent en la natura creades per adsorció (lligam directe) d'una monocapa d'un grup de substàncies anomenades surfactants. Aquestes molècules tenen un extrem hidrofílic i un hidrofòbic. La recerca d'aquestes molècules al Cartílag articular va portar a descobrir el SAPL (Surface Active Phospholipid), semblant al surfactant pulmonar. La teoria diu que, estant les molècules fortament unides entre si en un pla, les forces dèbils que existeixen entre els plans els permeten tenir un moviment de

lliscament. La font d'aquest surfactant sinovial podrien ser cossos lamel·lars secretats per cèl·lules sinovials de tipus B.

## 7. Maduració del cartílag articular

Ja a nivell macroscòpic crida l'atenció la diferència de coloració del cartílag amb l'edat, blavós al cartílag immadur probablement reflex de les estructures vasculars a la seva base i pel seu gruix relatiu, i groc marronós al vell. També histològicament s'hi aprecien diferències. El cartílag immadur és més cel·lular de forma difusa a tot el teixit i gruixut. Les cèl·lules a la capa tangencial són una mica més grans i no tant aplanades com a l'adult. Les zones radial i transicional són més gruixudes. Les columnes de cèl·lules que s'aprecien a les capes profundes del cartílag adult, a l'immadur arriben fins a una localització més superficial i a la zona profunda existeix una distribució en columnes molt més definida. En aquesta zona profunda es poden trobar vasos i les cèl·lules despleguen una activitat mitòtica demostrada a microscopia òptica i per les característiques de microscopia electrònica amb nuclis picnòtics i vacuoles intracitoplasmàtiques que contenen glucogen.

Al cartílag immadur hi hauria una banda per sota la capa tangencial amb activitat mitòtica i una altra més profunda immediatament superior a la zona d'invasió vascular. Aquestes dues bandes tindrien una morfologia similar a la zona proliferativa de la làmina microepifisària del nucli ossi subjacent (fisi) (Mankin 1997). Al cartílag adult ha cessat l'activitat mitòtica amb el desenvolupament d'una zona calcificada definida, el límit de la qual s'anomena marca d'aigua o *tidemark*.

La composició bioquímica també varia amb l'edat. Així el contingut d'aigua és relativament alt al cartílag immadur i disminueix fins un nivell estable. La proporció de col·lagen és menor al cartílag fetal i augmenta a nivells de l'adult poc després del naixement per mantenir-se estable. Els principals canvis amb l'edat semblen produir-se a nivell dels proteoglicans. Al naixement la proporció de proteoglicans és més alta, representant el 50% del pes sec del teixit, disminueix lentament durant el període d'immaduresa i s'estabilitza en el 15% al cartílag adult (Elliott 1979). També varien les característiques dels proteoglicans. Al cartílag immadur la proteïna central i les cadenes de GAG són més llargues; ambdues van disminuint fins l'adolescència i maduresa. S'ha observat una concentració molt alta de 4-sulfat de condroitina a animals immadurs que disminueix ràpidament amb l'edat. I la concentració total de condroitin sulfat disminueix mentre augmenta la de queratan sulfat fins aproximadament els 30 anys en humans. Llavors el queratan sulfat representa el 25-30% del total de GAG. Aquest valor es manté fins l'edat avançada. Amb l'edat, la quantitat de GAG no varia gaire, disminueix el contingut d'aigua i col·lagen respecte al pes sec, disminueix la proporció de condroitin sulfat i augmenta la de queratan sulfat (Venn 1978). Aquests canvis son absolutament oposats als observats en el cartílag artròsic, però en estudis més antics es confonen les dades perquè s'estudien teixits sans i artròsics d'individus d'edat.

La síntesi de PG in vitro està disminuïda als condrocits articulars del conill i bovins madurs, fins un nivell compatible amb el manteniment de la matriu extracel·lular després del seu remodelament durant el creixement, desenvolupament i maduració. Però aquesta síntesi no és suficient per reparar un defecte creat de nou, per una lesió o per degeneració del teixit. De tota manera, s'han investigat les possibilitats d'activació d'aquesta síntesi de forma farmacològica (O'Driscoll 2001).

## 8. Factors de creixement i cartílag articular

En els darrers anys s'han començat a definir els diferents factors polipeptídics de creixement que provoquen una resposta en les cèl·lules del cartílag articular (Lind 1996, Mankin 1991, Vega 2000). Aquesta pot ser d'estimulació o fre de la síntesi i acostuma a dependre de la concentració del factor de creixement i del nombre de receptors de la cèl·lula. La majoria de receptors són altament específics però alguns poden presentar una unió competitiva amb altres molècules com és el cas del IGF-I (Insulin-like Growth Factor I) i la insulina.

### *8.1 Factor de creixement derivat de les plaquetes (PDGF)*

Té una funció important en el creixement de les cèl·lules del teixit conjuntiu. Se n'han identificat diferents isoformes que semblen tenir activitats diferents. Encara que no està clar el seu mecanisme d'acció, alguns estudis li atribueixen un efecte mitogènic sobre els condrocits que no sembla presentar a l'articulació normal. En canvi, és probable que sí tingui un efecte en la cicatrització de laceracions superficials.

### *8.2 Factor bàsic de creixement dels fibroblastes (b-FGF)*

És un pèptid originat a la hipòfisi i al cartílag. Actua com a mitògen al teixit conjuntiu. Els estudis en cartílag demostren que estimula la síntesi d'ADN a condrocits articulars adults en cultiu i la reparació de talls al cartílag en un model in vivo en conills.

### *8.3 Factor 1 de creixement insulinoide (IGF-I)*

Aquest factor s'anomenava abans somatomedina C i és un dels tres pèptids més estudiats junt amb insulina i IGF-II. Probablement els tres siguin homòlegs i s'uneixin amb diferent afinitat a tres receptors cel·lulars diferents. No se sap amb certesa si es sintetitza localment o al fetge. Estimula l'ADN i la síntesi de matriu al cartílag fisari, al cartílag immadur i al cartílag articular adult i és més efectiu associat a altres factors. Sembla que manté un estat estable de síntesi de proteoglicans al teixit adult. Però els receptors cel·lulars per aquest factor es troben repartits de forma desigual en les diferents capes del cartílag adult (Verschure 1996).

### *8.4 Factor beta de transformació del creixement (TGF- $\beta$ )*

Inclou com a mínim cinc isoformes i té un receptor específic. Sembla potenciar l'acció d'altres factors i actuaria sobre os i cartílag, no sempre estimulants la síntesi. Es sintetitza localment als condrocits i sembla estimular la síntesi de proteoglicans i inhibir la de col·lagen de tipus II. A les fases inicials de l'artrosi sembla induir un augment del metabolisme dels condrocits amb la producció de PG no funcionals, però la seva associació amb altres factors pot produir efectes contradictoris (van den Berg 1995).

## 9. Enzims que degraden el cartílag articular

En el manteniment del cartílag articular se hi intervien processos de síntesi i degradació que s'han de trobar en equilibri. Els processos degradatius semblen deguts a

enzims proteolítics sintetitzats pels condrocits i és probable que la seva sobreactivitat estigui relacionada amb l'artrosi i l'artritis reumatoide. Aquests enzims es poden dividir en dos grups: les metaloproteases i les catepsines.

Les metaloproteases s'anomenen així perquè necessiten el zenc com a cofactor per la seva activitat. El grup inclou la col·lagenasa, gelatinasa i estromelisina. La col·lagenasa és molt específica pel col·lagen. La gelatinasa separa cadenes prèviament tractades per la col·lagenasa. L'estromelisina pot actuar sobre el col·lagen tipus II i IX. L'activitat dels tres enzims sembla controlat per un mecanisme d'activació i un d'inhibició. Se sintetitzen com a proenzim i requereixen una activació amb una modificació enzimàtica fora de la cèl·lula.

Les catepsines poden degradar l'agrecà. Els dos tipus identificats, D i B, es troben al cartílag articular i tenen la particularitat d'actuar amb un pH òptim baix.

## **DEGENERACIÓ DEL CARTÍLAG ARTICULAR**

### 1. Factors etiològics

#### *1.1 Consideracions generals*

Existeixen diverses causes de degeneració del cartílag articular humà. La més freqüent es desconeix, però relacionada amb l'edat, i per això l'anomenem artrosi primària. També hi poden intervenir factors genètics (Jacenko 1995, Vikkula 1993, Williams 1995). Altres causes poden ser malalties inflamatòries, substàncies tòxiques intraarticulars, exògenes o endògenes (sagnat articular a l'hemofília, sinovitis villonodular pigmentada, hemangiomes o per trastorns metabòlics com l'alcaptonúria, hiperuricèmia i artritis microcristal·lina), o lesions mecàniques (Dekel 1978). La darrera pot ser deguda a un ús excessiu en alguns esports o treballs (Murray 1999) o un augment de les pressions sobre el cartílag (Chen 1999) per una alteració de la biomecànica de l'extremitat (Freeman 1982, Reimann 1973, Smillie 1981, Solchaga 1992).

L'artrosi és tant un procés patològic primari de les articulacions recobertes de cartílag articular com el punt d'arribada comú de totes les patologies que afecten els diferents teixits de les articulacions sinovials (sinovial, lligaments, os) (Sokoloff 1987). Per tant la podem estudiar com una cadena d'esdeveniments a la qual es pot incorporar qualsevol patologia que afecta l'articulació i que finalment acabarà amb la destrucció articular.

#### *1.2 Artrosi idiopàtica*

L'artrosi primària és una malaltia del cartílag no associada a cap alteració articular, traumatisme o deformitat òssia prèvies. Com que clínicament, aquest procés es veu influenciat per factors secundaris com l'edat, pes corporal, història de traumatisme i variacions anatòmiques, considerem l'artrosi com una malaltia no inflamatòria de les articulacions sinovials influenciada per múltiples factors en el seu origen i progressió (Milgram 1990b).

La degeneració del cartílag articular comença a la capa superficial i progressa en profunditat (Mitchell 1992, Hembry 2001) fins la seva completa destrucció. La velocitat d'aquest procés és variable, i així a la majoria de casos la persona haurà mort per altres causes abans d'arribar a la destrucció completa del cartílag. A altres casos, una destrucció accelerada porta a la destrucció completa del cartílag i l'articulació de l'os subcondral dels dos extrems de l'articulació. S'ha intentat trobar algun factor o marcador bioquímic que pugui predir la velocitat de destrucció que presentarà una articulació concreta sense que de moment s'hagi trobat (Fawthrop 1997) i marcadors de la presència d'una malaltia articular (Karopoulos 1996).

### *1.3 Envel·liment del cartílag articular*

Amb l'edat es produeixen canvis importants en la funció cel·lular, les propietats mecàniques, composició i organització molecular de la matriu del cartílag articular (Stockwell 1967). Els canvis degeneratius apareixen en relació amb l'edat i augmenten progressivament en prevalença, extensió i gravetat amb l'augment d'edat (Casscells 1978, Meachim 1969). Paral·lelament, augmenta amb l'edat la prevalença de la síndrome clínica de l'artrosi amb dolor i rigidesa a les articulacions afectades, augment de densitat de l'os subcondral i formació d'osteofits. Aquests fets suggereixen que, en alguns individus, la fibril·lació superficial del cartílag relacionada amb l'edat progressa cap a clivelles, fissures, fragmentació i, finalment, grans erosions amb exposició d'os subcondral que causen els símptomes de l'artrosi. De tota manera, la relació entre els canvis degeneratius descrits i l'aparició de la síndrome artròsica no és del tot clara perquè no tots els canvis degeneratius es tradueixen clínicament i a iguals lesions objectives, la simptomatologia que presenten dos malalts diferents pot no coincidir, o fins i tot un pot presentar dolor i un altre no tenir-ne gens.

Els canvis histològics, ultraestructurals i bioquímics del cartílag articular relacionats amb l'edat s'han pogut estudiar en humans a partir d'espècimens quirúrgics per fractures del cap del fèmur. Amb l'edat, disminueix la densitat cel·lular del cartílag però es manté relativament constant durant la vida adulta. Amb l'edat canvia la morfologia i funció de síntesi de les cèl·lules; acumulen filaments intracitoplasmàtics, poden perdre part del reticle endoplàsmic (Meachim 1969), produeixen PG diferents per variacions en la síntesi, especialment a nivell de la glicosilació (Roughley 2001). Aquests canvis fan les cèl·lules menys efectives en el manteniment de les macromolècules de la matriu i la reparació de la matriu després d'una lesió (Buckwalter 1993).

Amb l'edat, els PG de la matriu són més petits i variables en la mida, augmenta el seu contingut de queratan sulfat, disminueix el de condroitin sulfat i també disminueix la proporció de molècules que formen grans agregats (Elliott 1979, Venn 1979). Es produeixen agregats més petits, amb menys molècules, que produeixen agregats més petits (Buckwalter 1985).

Probablement es produeixen canvis en les molècules i la matriu que disminueixen l'agregació i la mida dels agregats. La degradació proteolítica deixa fragments moleculars a la matriu que ocupen espai i que es poden unir a l'hialuronat, inhibint l'agregació de molècules totalment funcionals. Les proteïnes d'unió, responsables de l'estabilització i organització de grans agregats de PG, també pateixen canvis proteolítics amb l'edat (Sandy 1987). Encara que les proteïnes d'unió alterades



s'uneixin a l'hialuronat i l'agrecà, poden ser menys efectives en l'estabilització dels agregats. L'hialuronat, el GAG que forma la molècula central dels agregats de PG, disminueix la seva mida i augmenta la seva concentració amb l'edat. No queda clar si aquest augment de concentració és degut a un augment de síntesi o a l'acumulació de molècules degradades. Com que l'agregació ajuda a organitzar i estabilitzar els PG dins de la matriu, la disminució en l'agregació i la mida dels agregats pot alterar l'estabilitat i propietats mecàniques de la matriu (Buckwalter 1993).

El col·lagen també canvia amb l'edat alterant les propietats del teixit. Probablement les unions entre molècules de col·lagen augmenten per reaccions de glicosilació no enzimàtiques (Uchiyama 1991). L'augment de les unions entre les fibres, l'augment del diàmetre de les fibres i la disminució del contingut d'aigua (Venn 1978) podrien donar una matriu cartilaginosa més rígida, amb menys capacitat de deformació sota càrrega, que en ser menys flexible es pogués lesionar amb més facilitat en la seva estructura (Buckwalter 1993). L'augment del col·lagen de tipus I amb l'edat s'ha correlacionat amb la presència de fibrosi en el context de canvis degeneratius previs com a reacció reparadora però no com una conseqüència directa de l'edat (Goldwasser 1982). Els canvis en els PG i el col·lagen potser expliquen la disminució del contingut d'aigua amb l'edat i els canvis en les propietats mecàniques del cartílag articular amb disminució en la resistència a la tensió, resistència a la fatiga i elasticitat (Kempson 1982). Però en estudis amb cartílag artròsic del maluc s'ha documentat un augment del contingut d'aigua a les capes mitges que podria ser degut a la lesió de la xarxa de col·lagen que no seria capaç de retenir la pressió dels PG hidratats (Venn 1979). Així doncs, en cartílag de persones d'edat avançada, existiria una pèrdua del contingut total d'aigua mentre que si existeix artrosi de l'articulació estudiada hi hauria un augment del contingut d'aigua.

Els canvis que afecten les cadenes de GAG semblen tenir l'origen en la seva síntesi, probablement per adaptar-se a les necessitats canviants del teixit durant el seu desenvolupament des del període fetal. En canvi, moltes de les alteracions que afecten les proteïnes semblen ser de tipus degeneratiu, i els productes de degradació que s'acumulen serien el resultat d'aquest procés (Roughley 1987, 2001).

#### *1.4 Altres factors etiològics*

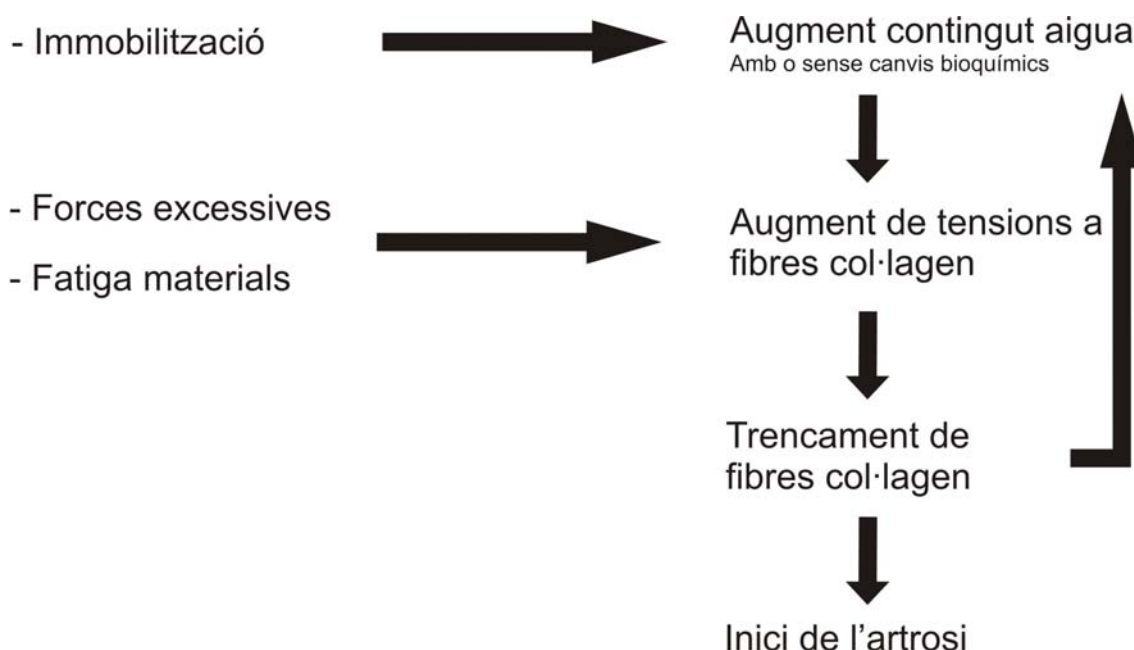
Altres factors estudiats en relació a l'etiologia de l'artrosi són els canvis en l'alliberament d'enzims lisosòmics (Dingle 1973), canvis en les molècules que actuen de missatgers (Fukuda 1995) i la resposta immunitària a certes proteïnes de la matriu cartilaginosa que poden actuar com un antigen desencadenant una resposta immunitària (Boniface 1988, Cooke 1986 i 1987, Kresina 1988). Però encara que existeixin aquestes alteracions és difícil assegurar si són un factor primari en el desenvolupament de l'artrosi o, al contrari, només són una resposta al procés degeneratiu que ja ha començat.

La presència de molècules que poden contribuir a lesionar el cartílag en l'artrosi, ha fet que es busquin sistemes per eliminar-les. Un d'ells podria ser la injecció intraarticular de substàncies que s'hi unissin i el conjunt pogués ser eliminat de l'articulació pel sistema limfàtic (Ghosh 1995).

## 2. Fisiopatologia

### 2.1 Fases inicials

El desencadenant de tot el procés artròsic és desconegut però, juntament amb l'edat, hi podem anomenar la immobilització perllongada de l'articulació que lesionaria els porus superficials del teixit i, per altra banda, forces excessives sobre el teixit que superin el seu dintell de resistència, siguin per una sobrecàrrega puntual o per alteracions biomecàniques de l'extremitat que de forma continuada sotmeten el cartílag articular a unes pressions excessives. En el cas de la immobilització perllongada, augmentarien els porus superficials del cartílag i l'entrada de molècules nocives al teixit que en condicions normals no podrien entrar per la seva mida. Canvis en l'equilibri osmòtic farien la resta. L'aigua entraria al teixit trencant les fibres de col·lagen i convertint les lesions en irreversibles i progressives. L'aparició d'alteracions bioquímiques a distància d'una lesió macroscòpica, en cartílag aparentment sa, ha fet postular alguns autors que aquests canvis bioquímics inicien el procés artròsic (Moskowitz 1979). En el cas de les forces excessives, la lesió de les fibres d'aquesta capa tangencial seria directament el primer pas. Una altra hipòtesi que s'ha apuntat respecte a la lesió de l'estructura de col·lagen és el desmoronament de la xarxa de col·lagen per algun mecanisme de fatiga de materials (Freeman 1980). En aquest cas, les fibres de col·lagen, o més probablement les unions entre les fibres que donen consistència a la xarxa, es trencarien donant un teixit menys rígid, amb una mobilitat excessiva que comportaria un excés de tensions a les fibres col·làgenes que s'acabarien trencant donant lloc macroscòpicament a l'aparició de fibril·lació al cartílag.



**Esquema 1.** Etiologia de l'artrosi

Des d'un punt de vista morfològic s'ha observat una distribució irregular de la gravetat de les lesions del cartílag d'uns punts a altres de la mateixa articulació. Poden existir lesions de diversa intensitat al costat de zones de cartílag articular absolutament normal. També s'ha observat que no existeixen diferències significatives a cap dels paràmetres estudiats de contingut d'aigua, estructura de la matriu, síntesi de GAG, contingut cel·lular (Armstrong 1982, Brocklehurst 1984, McKenzie 1977), entre el cartílag articular de les articulacions normals i el de les zones macroscòpicament normals d'espècimens afectes d'artrosi. Això recolza la idea que l'artrosi idiopàtica no és una malaltia global sinó local, depenent de les sobrecàrregues a què pugui estar sotmesa l'articulació i de la pèrdua de les característiques físiques del cartílag (Faig 1988).

Degut a l'heterogeneïtat de la superfície articular segons l'edat, factors interindividuals i intraindividuals així com topogràfica que presenten els diferents estudis, encara no existeix en la literatura un model únic dels canvis bioquímics que es produeixen a les fases tardanes de l'artrosi (Brocklehurst 1984). En canvi existeixen estudis experimentals, sobretot en conills i gossos, sobre aquests canvis en fases inicials i mitges (Heinegård 1987, von der Mark 1990).

Quan el cartílag articular perd la nutrició per una immobilització o la descàrrega tenen lloc diversos canvis microscòpics (Hesse 1981). Als 2 a 6 dies, es redistribueixen els grànuls superficials observats a microscopia electrònica de superfície. Els condrocits superficials mostren canvis al complex de Golgi i reticle endoplàsmic. I la matriu del voltant és més pobre en col·lagen i PG. Si segueix la immobilització, els grànuls superficials desapareixen del tot i es produeix un eixamplament de la xarxa col·làgena superficial. La desaparició de grànuls eixampla els porus que permeten el pas de molècules més grans. Però aquests canvis són reversibles i a les 4 a 6 setmanes no es veuen canvis ultraestructurals al cartílag, ni a la matriu ni a les cèl·lules. Però quan la xarxa fibril·lar mostra canvis patològics, aquests són irreversibles i l'articulació ha iniciat el camí a l'artrosi.

La microscopia electrònica mostra a la superfície articular una xarxa organitzada però amb certa laxitud de les fibres de col·lagen a la capa superficial (tangencial) i un eixamplament de la xarxa de col·lagen, així com la pèrdua d'elements superficials, sobretot agregats de proteoglicans.

Les cèl·lules redueixen la seva activitat metabòlica tal com mostra la presència de grànuls citoplasmàtics (Ippolito 1978). Els condrocits de la capa superficial (tangencial) mostren canvis hidròpics de les seves organel·les que indiquen una reducció de la seva activitat de síntesi i contenen menys glicogen però encara mantenen una activitat metabòlica elevada.

En alguns models d'artrosi in vitro es produeix una degradació tardana del col·lagen tipus II, després de perdre la majoria de proteoglicà; mentre que a models in vivo, tant en gossos com en humans, la disminució del col·lagen (Venn 1977) precedeix la dels proteoglicans. Probablement la causa és que in vivo hi ha un intent de reparació que compensaria la degradació de proteoglicans dipositant-ne més a la matriu extracel·lular (Price 1999) i un augment en la síntesi de col·lagen a fases inicials de l'artrosi (von der Mark 1990).

Augmenta el contingut hídric (McDevitt 1977) fins el 6% (McDevitt 1976) afectant només les capes superficials (Brocklehurst 1984). També augmenta el gruix d'aquesta capa. Aquest augment del contingut hídric s'estén a la resta de capes amb la progressió de la malaltia i es podria relacionar amb la degradació de PG i amb l'augment de GAG lliures que augmentaria el gradient osmòtic. Aquesta hidratació estovaria el cartílag macroscòpicament i li donaria un color blavós (Akeson 1981, Armstrong 1982).

Existeix poca diferència en la concentració total de PG. La proporció de condroitinsulfat i queratansulfat és similar. La relació de proteïna i àcid glucurònic també es manté. La concentració de PG respecte al pes humit del teixit està lleugerament disminuïda deguda a la dilució per l'augment del contingut d'aigua, però el contingut total de PG, és a dir, la concentració de PG respecte al pes sec del teixit, es manté (Brocklehurst 1984).

En canvi, amb l'envelliment simple del cartílag (sense artrosi), si es conserva la capa més superficial, es produeix una disminució del contingut d'aigua i un augment relatiu del contingut de PG.

Les capes profundes encara no estan afectades i tenen condrocits organitzats en columnes de cèl·lules actives amb una matriu intercel·lular normal. Pot existir una reducció de PG i col·lagen a la matriu pericel·lular.

## *2.2 Progressió*

El mecanisme d'augment de contingut d'aigua amb o sense pèrdua de PG es considera el primer estadi de l'artrosi (Mankin 1981). La disminució de la pressió osmòtica amb un augment de la permeabilitat a l'aigua farien que el cartílag sotmès a càrrega perdés ràpidament el seu contingut hídric i que aquest es recuperés més lentament en cedir la càrrega. El mateix resultat es pot obtenir incubant cartílag amb elastasa que destruiria parcialment el cartílag. L'augment de permeabilitat a l'aigua podria fer que en un moment de càrrega de l'articulació no hi hagués prou aigua dins el cartílag per esmorteir la càrrega que rep el teixit. En aquest moment, l'excés de forces trencarien les fibres de col·lagen provocant un progrés en la destrucció tissular.

Quan progressa l'artrosi, la capa superficial mostra "fibres flotants" a la microscopia electrònica, desorganització i una lesió inicial de la xarxa de fibres organitzada amb molts condrocits necròtics; queden els condrocits exposats a un medi hostil demostrat per la disminució del reticle endoplasmàtic, augment dels dipòsits de lípids i glicogen intracel·lulars, necrosi del citoplasma amb augment de dipòsits lipídics i de l'alliberament de restes cel·lulars a la matriu. A la matriu cartilaginosa existeix un eixamplament i lesió de la xarxa de col·lagen amb disminució de PG (Sweet 1977) i presència de cossos densos que provenen de condrocits necròtics.

L'alteració de la biomecànica del teixit per la destrucció col·làgena provocaria la desaparició dels condrocits de la capa tangencial, que implicaria la fi de la síntesi de matriu en aquesta capa.

A capes més profundes (radial), trobem les columnes de condrocits amb només 3 a 5 cèl·lules. Malgrat la seva pèrdua de glucogen, les organel·les d'aquestes cèl·lules es mostren molt actives.

Aquestes troballes disminueixen quan baixem a les capes profundes, que implica que aquestes capes encara no estan afectades pel procés. A la capa intermitja podem trobar:

- cèl·lules amb signes de patiment a la microscopia electrònica
- formació de grups de cèl·lules o clons (clusters a la literatura anglosaxona) amb un augment de l'activitat de síntesi.

A les capes profundes les cèl·lules cartilaginoses actives s'organitzen en grups amb matriu pericel·lular i intercel·lular normal. Els canvis als condrocits que indiquen una artrosi són la necrosi, formació de clusters de tipus A i B. Els condrocits necròtics apareixen com espais buits. Els clusters de tipus A mostren una alteració de la síntesi cel·lular, i produeixen col·lagen de tipus I en substitució del col·lagen de tipus II. La síntesi de PG també es veu afectada. Els clusters de tipus B estan formats per cèl·lules poc actives més que cèl·lules disfuncionals. Mentre el tipus A es troba a fases avançades de l'artrosi, el B es va trobar sobretot a lesions traumàtiques del cartílag i artrosi induïda mecànicament.

A les capes profundes, els condrocits actius que formaven columnes s'agrupen formant clusters de 5-7 cèl·lules. La pèrdua de matriu observada en aquesta fase de progressió es compensa per la síntesi dels condrocits de les capes profundes.

La pèrdua de PG fa que existeixi una disminució de la tinció amb safranina-O a les zones superficials però no a les profundes, especialment al voltant dels condrocits (Cruess 1984).

L'augment de la síntesi de PG produeix GAG immadurs (Mankin 1981, Thompson 1979, 1981). Es produeix un desequilibri entre síntesi i secreció que porta a una disminució de la matriu cartilaginosa i a la producció de GAG incomplets i per tant inútils (Matyas 1995). La reducció de GAG també disminueix la unió dels polisacàrids a les proteïnes. Els PG mostren un augment més important de condroitinsulfat que de queratansulfat i estan units al col·lagen i àcid hialurònic d'una manera més laxa. Tot això disminueix l'aigua del teixit, que perd elasticitat i l'efecte amortidor (Rehak 1991).

Amb l'artrosi hi hauria un augment dels PG totals, disminució del queratan sulfat absolut i relatiu respecte a condroitin sulfat, que es manté o disminueix lleugerament, augment del 4-sulfat de condroitina respecte a 6-sulfat de condroitina que podria indicar un augment de longitud de la cadena de condroitinsulfat i una disminució d'àcid hialurònic (von der Mark 1990).

Malgrat la síntesi augmentada tant pel queratan com el condroitinsulfat, trobem una disminució de GAG especialment el condroitinsulfat degut a un augment del catabolisme.

Amb l'augment de la gravetat de la malaltia, la síntesi tendeix a disminuir, essent normal a les capes profundes que encara no estan afectades.

A les capes intermitja i radial profunda existeix una disminució dels PG de la matriu intercel·lular i de la tinció amb safranina-O. Les fibres de col·lagen es fan més gruixudes a la zona intermitja i també a la radial (Donohue 1983). La matriu col·làgena és més laxa.

En aquesta fase encara no serien visibles macroscòpicament les lesions.

La progressió de la destrucció del cartílag es manifesta per l'aparició d'acúmul de fibres desorganitzades i fissures. A la fibril·lació de la superfície amb desaparició de condrocits s'hi afegeixen fissures i fibretes de col·lagen degradades. Apareixen cossos amorfs electrondensos a la capa superficial.

Les fibres de col·lagen són més laxes amb una orientació normal a cada capa. Existeixen microfibrilles que semblen un reforç provisional per apuntalar el cartílag.

Sota el cartílag normal de la zona radial, al costat de superfície amb fibril·lació, es troben quists sense continuïtat amb la superfície de la zona veïna amb fibril·lació. Aquest fet suggereix que podria tractar-se de lesions inicials perquè el cartílag adjacent als quists no pot absorbir prou forces de pressió. Això podria explicar la presència de lesions prop de les zones amb fibril·lació que pateixen pressions excessives.

A les capes profundes els condrocits estan organitzats en petits clusters de cèl·lules normals amb una matriu pericel·lular normal però amb un eixamplament de la xarxa de col·lagen a la matriu intercel·lular.

Histològicament, la fibril·lació pot quedar localitzada sense alterar el metabolisme de les capes més profundes (Thompson 1979).

Els canvis en les pressions influeixen segons la intensitat la síntesi del cartílag in vitro i in vivo de forma positiva o negativa. Segons els estudis es veu augment (Vignon 1983, Mankin 1981) o disminució de l'activitat sintètica dels condrocits. Això pot ser degut a un augment proporcional al grau de lesió en una primera fase i després disminució a fases més tardanes. Però en estudis experimentals, el grau d'augment de síntesi entre diferents cèl·lules d'un mateix estudi pot mostrar diferències enormes (von der Mark 1990). En tot cas sembla existir un intent de reparació que claudica arribat a un cert punt.

Mankin (1981) troba que el cartílag artròsic té un metabolisme més actiu, amb un augment dels nivells enzimàtics (com el de les catèpsines) i de síntesi col·làgena. Però existeix una disminució dels PG totals, tant d'hexosamina com glicosamina, proporcional al grau de lesió. La vida mitjana dels PG és de 300-600 dies al cartílag adult (Maroudas 1975) i pel col·lagen és de 500 dies. Per tant, l'augment de síntesi a l'artrosi no serà suficient per la reparació donat que el recanvi és molt lent. La descoordinació en la regulació de la síntesi de PG i col·lagen de tipus II sembla una característica metabòlica de l'artrosi precoç que pot contribuir a la seva patogènesi (Adams 1995).

En aquesta fase de l'artrosi, els models experimentals mostren clusters i invasió vascular a la capa calcificada que arriba a penetrar la *tide mark* (Cruess 1984). Això

podria representar un intent de l'articulació per furnir cèl·lules mesenquimals noves a la zona lesionada, on les cèl·lules presents no poden guarir la malaltia. També es presenta un augment de la tinció amb safranina-O al voltant de les cèl·lules a la zona calcificada. L'os subcondral mostra un augment de vascularització.

En models de defectes de gruix parcial, s'observa una disminució del gruix del cartílag per la progressió de la zona calcificada i la *tidemark* cap a la superfície i l'àrea subcondral; la darrera amb augment de vascularització. El cartílag per sota les lesions creades a la superfície mostrava hipocèl·lularitat i algunes llacunes buides (Lemperg 1983).

A l'artrosi es produeixen altres mecanismes destructius a conseqüència de la difusió de proteases a través dels defectes del cartílag i processos immunològics (Ehrlich 1986, Hembry 2001). Els condrocits alliberen catèpsina que, per la seva banda, indueix la degradació de la matriu cartilaginosa. La destrucció de GAG disminueix el contingut hídric quan disminueix la pressió osmòtica, i disminueix l'elasticitat del cartílag. Això provoca fissures al cartílag que encara lesionen més el teixit i els condrocits. Els condrocits al voltant d'aquestes àrees lesionades reben estímuls per entrar en mitosi, reproduir-se formant clusters i produir més matriu (Chrisman 1969).

Els PG lliures a l'articulació experimentalment provoquen una hipertròfia sinovial, sinovitis, augment de col·lagenasa lliure i d'interleukina 1 (Boniface 1988).

A l'artrosi també es produeix una alteració hormonal relacionada amb l'edat amb disminució d'estrògens, andrògens i insulina i un augment de glucocorticoides i tiroxina que fan disminuir els GAG i engruixir l'agregat de col·lagen (Rehak 1991)

### 2.3 Fases avançades

Prossegueix la disminució de PG, GAG i àcid glucurònic (Brocklehurst 1984, Mankin 1971) per disminució de la síntesi. Hi ha clusters de cèl·lules. Les escletxes arriben a la capa intermitja.

La superfície articular presenta ara fissures, partícules de detritus, cèl·lules inflamatòries i una xarxa de fibrina. Existeix una superfície degradada de la matriu amb àrees extenses de dipòsits amorfs. Les capes profundes mostren condrocits organitzats en grans clusters polimorfs de cèl·lules actives, patològiques i necròtiques. Hi ha una reducció de PG pericèl·lulars i col·lagen així com a la matriu intercel·lular que conté cossos densos. Tot plegat afecta la resistència i propietats biomecàniques del cartílag articular.

La divisió cel·lular per intentar sintetitzar més matriu es produeix de forma desorganitzada. Això dona clusters de cèl·lules en els quals algunes cèl·lules tenen nuclis anormals. La divisió cromosòmica patològica podria explicar la síntesi de material anormal per la matriu.

En aquesta fase, els condrocits de les capes profundes ja no poden compensar la pèrdua de components de la matriu extracel·lular que es va degradant ajudada per productes alliberats per les cèl·lules destruïdes. També la inflamació de la sinovial actua en aquest sentit alliberant productes que acceleren el procés destructiu del cartílag, com

seria el cas de les interleukines. A diferència de l'artritis reumatoide i altres malalties reumàtiques, l'inici de tot aquest procés és la destrucció del cartílag articular que secundàriament produeix la inflamació de la membrana sinovial. En canvi, a l'artritis reumatoide, l'inici de la destrucció articular es troba a la sinovial, i secundàriament afecta el cartílag. El contacte directe de la matriu cartilaginosa amb el líquid sinovial crea una sinovitis local per l'alliberament de restes de cartílag a l'articulació, que provoca l'alliberament d'enzims de la membrana sinovial que destrueixen encara més la matriu cartilaginosa.

Finalment s'arriba a la destrucció total de la capa superficial. Fibril·lació i condrocits necròtics a les capes intermitges. A les capes profundes encara hi pot haver algunes àrees de cartílag sa.

En el cartílag sa existeix un contingut d'aigua més gran a les capes superficials que a les profundes. Amb l'edat disminueix el contingut d'aigua fins el 65-75%. A totes les fases de l'artrosi, hi ha un augment del contingut d'aigua de la matriu. Això provoca una pèrdua de resistència a la pressió, a més a més d'estripades i fissures per forces tangencials. Aquest augment d'aigua seria degut a que queden més grups hidrofílics lliures en trencar-se els PG o quedar molècules de PG més petites amb grups hidrofílics lliures (Mankin 1975). També podria ser pel trencament de la xarxa col·làgena que comporta una disminució de la resistència a la tracció produïda per l'augment de la pressió osmòtica i permet un major acúmul d'aigua, sobretot a les capes mitges, malgrat la disminució en la quantitat de GAG (Maroudas 1977).

La composició del cartílag en col·lagen i proteoglicans li dona el grau d'elasticitat necessari per la seva funció. Quan aquesta composició varia, també ho fa la seva capacitat de deformar-se i tornar a la posició inicial quan cedeix la força que actua sobre ell (Coletti 1972). Aquest canvi en la seva composició comporta una disminució de la seva funció absorbidora de càrregues, que passaran a l'os subcondral. Aquest fet, degut a la llei de Wolff, farà que l'os augmenti la seva resistència engruixint les trabècules i donant la imatge radiològica de reforçament de l'os subcondral. Alguns autors relacionen la degeneració del cartílag amb un augment previ de la rigidesa de l'os subcondral (Radin 1978). Però no és clar quin dels dos processos, cartilaginós i ossi, precedeix l'altre (Reimann 1977b).

### 3. Canvis histològics al cartílag degenerat

Després de tot el que acabem de dir, podem anomenar tota una sèrie de lesions que podem trobar a nivell histològic al cartílag artròsic (Meachim 1980):

- Fissuració del cartílag seguint la mateixa orientació de les fibres de col·lagen que podríem interpretar com una "fractura de fatiga" de la xarxa col·làgena i recolzaria l'existència d'un procés de fatiga de materials com a causa de l'artrosi.

- Pèrdua de cartílag superficial sense fissuració que es podria relacionar amb un mecanisme abrasiu o de desgast en la hipòtesi etiològica del procés artròsic.

- Fissuració horitzontal a nivell de la *tidemark* o el límit entre el cartílag calcificat i no calcificat. Això suposaria una força de cisallament entre la capa no calcificada, que té una certa elasticitat en ser sotmès a càrrega, i la capa calcificada, més rígida, que no pot seguir la capa que té a sobre en els moviments de deformació.



- Necrosi de condrocits que es manifesta com una manca de tinció del nucli a la histologia.

- Aparició de clusters de cèl·lules que contrasta amb la necrosi que pateixen alguns condrocits en el mateix cartílag. Es tracta d'una reacció de proliferació cel·lular a partir de condrocits que s'han mantingut viables.

- Zones de fibrosi que alternen amb teixit ossi quan la pèrdua de teixit cartilaginós arriba a l'os fins el punt de produir un sagnat que permeti la proliferació de fibroblastes.

- Pèrdua completa de la capa cartilaginosa de l'articulació i contacte del teixit ossi subcondral amb la cavitat sinovial. Aquesta seria la fase final de l'artrosi amb una articulació entre els extrems ossis. Histològicament pot aparèixer una necrosi dels osteòcits superficials que es manifesta com espais lacunars buits degut a les forces excessives que reben en absència del paper esmorteïdor del cartílag. A nivell més profund l'os pot mostrar focus d'osteoesclerosi o, amb menys freqüència, osteolisi.

#### 4. Clínica

Els símptomes de l'artrosi més freqüents són el dolor, rigidesa matinal, sensació d'instabilitat o bloqueig i pèrdua de funció (Cramer 1997), però variaran i seran més o menys limitants pel pacient segons si es tracta d'una articulació de càrrega o no. El dolor acostuma a ser el principal motiu de consulta al professional mèdic. Sol ser un dolor insidiós al principi, d'intensitat lleu a moderada, que empitjora amb la utilització de l'articulació afectada, i millora amb el repòs. El dolor amb el repòs o durant la nit és característic de la malaltia greu. Al genoll, el dolor pot tenir una localització interna, externa o anterolateral, de vegades posterior i àdhuc difusa. Pot irradiar a la cara anterior de la cuixa o regió proximal de la cama. En aquesta localització el dolor apareix durant la marxa i amb els canvis de posició. Al principi evoluciona amb crisis doloroses que duren alguns dies, seguides de períodes de remissió variables. A fases més avançades s'agreugen els dolors provocant una limitació funcional amb disminució progressiva del perímetre de marxa (Bonnell 1990).

La artrosi comença com un procés asimptomàtic molt abans que el pacient sigui conscient que pateix una alteració articular. Sembla probable que l'inici de símptomes sigui degut al pas de partícules de la matriu cartilaginosa a la cavitat articular, provocant una inflamació secundària de la membrana sinovial de l'articulació. En fases més avançades, les alteracions mecàniques a nivell de l'os per les alteracions en la transmissió de les càrregues afegirien una nova font de dolor, ja que l'os subcondral està innervat. No s'ha demostrat la presència de nervis a la matriu òssia però sí al moll d'os. En articulacions artròsiques existeix una augment de la innervació relacionada amb un augment de la vascularització subcondral al moll d'os i el teixit de granulació (Reimann 1977a). Com que el cartílag no està innervat, en cap cas produirà dolor per si mateix al llarg de tot el procés. Les possibles fonts de dolor a l'artrosi són la membrana sinovial, la càpsula articular, els lligaments periarticulars, l'espasme muscular periarticular, el periosti i l'os subcondral.

Algunes investigacions (Fuller 2001, Lohmander 1995) intenten actualment trobar mètodes no invasius per l'estudi de l'artrosi mesurant la concentració de molècules que intervenen en el procés degeneratiu amb l'objectiu de detectar precoçment canvis artròsics abans que tinguin lloc canvis irreversibles.

El diagnòstic clínic de l'artrosi s'acostuma a confirmar radiològicament per l'aparició d'osteofits articulars marginals, pinçament de l'espai articular, esclerosi de l'os subcondral, formacions quístiques subcondrals i, a casos greus, deformatat òssia.

La història natural de l'artrosi és molt variable. La majoria d'estudis s'han portat a terme amb pacients afectats per l'artrosi del genoll i demostren que, encara que la progressió radiològica és habitual, no és inevitable, i una part dels pacients amb signes i símptomes clars d'artrosi no mostren una progressió en el seguiment al cap d'alguns anys (Ledingham 1995).

### 5. Classificacions morfològiques

Tal com hem dit al començament, l'artrosi és un punt d'arribada comú per múltiples processos que destrueixen l'articulació influïts per factors com l'edat d'inici del procés, extensió i velocitat de progressió. Però la lesió artròsica presenta un patró uniforme caracteritzat ultraestructuralment per: una important redistribució de l'arquitectura del col·lagen, pèrdua de la matriu, alteracions cel·lulars com augments del reticle endoplàsmic i aparell de Golgi relacionats amb l'augment de síntesi de la matriu, divisió cel·lular i, finalment, a la malaltia avançada, un predomini de la destrucció cel·lular i destrucció de la matriu (Weiss 1972) (Taula 1).

Tot aquest procés s'ha intentat sistematitzar i dividir en fases per facilitar el seu estudi (quadre 1, taules 1 i 2, i figura 1) però no existeix una classificació utilitzada de forma universal. Des del punt de vista ultraestructural s'han proposat altres classificacions. La naturalesa focal de la malaltia pot fer que el cartílag articular dins una mateixa articulació pugui contenir àrees amb tot l'espectre histològic des de la normalitat fins a artrosi avançada. La classificació d'Outerbridge (1961) modificada, per la seva senzillesa i facilitat d'aplicació clínica és potser la més estesa, però la seva utilitat és limitada.

En la classificació d'Outerbridge es valora la superfície articular en una intervenció quirúrgica com una artroscòpia o una artrotomia. Amb una aparença normal de la superfície articular, quan palpem el teixit cartilaginós i trobem que és tou i l'instrument palpador s'enfonsa en el teixit sense perforar la superfície, estem davant un grau I de la classificació d'Outerbridge. El cartílag ha de tenir una major resistència a la pressió de la seva superfície. En el grau II, el trencament de les fibres superficials de col·lagen que protueixen cap a la cavitat articular provoca un aspecte de camp de blat a la superfície articular. El trencament de fibres més profundes, comprovat en estudis de microscopia electrònica (Hesse 1990), es manifesta a la superfície amb l'aparició de clivelles o fissures que podem veure que s'extenen a les capes profundes.

Grau 0:	cartílag sa
Grau I:	estovament del cartílag articular
Grau II:	fibril·lació de la superfície articular
Grau III:	fissuració de la superfície articular
Grau IV:	pèrdua completa de la capa cartilaginosa amb exposició d'os subcondral

**Quadre 1.** Graus d'artrosi d'Outerbridge.

Introducció

		Artrosi inicial	Artrosi moderada	Artrosi avançada
Matriu	Superficial	Mínimes irregularitats superficials. Pot conservar la capa de fibres més superficial.	Nombrosos plecs a la superfície. Manca de la capa de fibres superficial. Acúmul de fibres paral·leles als plecs.	Superfície amb fibrilació profunda. Fibres de colagen paral·leles a les fibrilacions. Augment de separació de les fibres.
	Mitja	Conté fibres de colagen de diàmetre 20-160nm. Molta distància interfibrilar.	Fibres més perpendiculars a la superfície mentre tenen orientació a l'atzar al cartílag normal.	Fibres perpendiculars a la superfície.
	Profunda	Fibres colagenes perpendiculars a la superfície mentre al cartílag normal estan orientades a l'atzar. Matriu amb menor densitat electrònica.		
Cèl·lules	Superficial	Poden ser viables o amb signes de degeneració. Les viables són grans i elongades, paral·leles a la superfície. Abundants organelles intracel·lulars. Nucli irregular.	Clusters de cèl·lules al costat de fissures. Les cèl·lules no tenen l'halo com a les zones profundes i estan envoltades de fibres de colagen de menor diàmetre. Nucli i citoplasma sense signes de degeneració.	Més cèl·lules degenerades amb filaments intracitoplasmàtics perinuclears, estructures vesiculars i escàs reticle endoplàsmic i aparell de Golgi. Més cèl·lules d'aquest tipus a més degeneració i edat.
	Mitja	Cèl·lules voltades d'halo pericel·lular de fibretes. Condrocits rodons, gran volum citoplasmàtic amb mitocondries, aparell de Golgi, reticle endoplàsmic i vesícules. Hi ha centriols que poden indicar replicació cel·lular.	Els condrocits tendeixen a agrupar-se en clusters o clons de 5-20 cèl·lules. Condrocits voltats de fibretes i restes de condrocits degenerats. Mida 2-3 vegades superior a condrocits normals d'aquesta capa amb moltes organelles, sobretot reticle endoplàsmic i Golgi. Centriols freqüents.	Més nombre de condrocits a varies fases de degeneració.
	Profunda	Signes degeneratius com augment de filaments intracel·lulars i disminució de reticle i Golgi.	Quasi totes les cèl·lules en diversos graus de degeneració i envoltades d'halo de colagen madur sovint de major diàmetre. Nuclis sovint densos amb filaments intracitoplasmàtics i poc reticle i mitocondries edematoses.	

**Taula 1.** Evolució de l'artrosi segons Weiss (1972).

Fase	Superfície cartilaginosa	Capess superficials	Capess profundes
I	Pèrdua d'elements superficials, xarxa fibril·lar organitzada	C: canvis hidròpics a organel·les PCM: eixamplament de xarxa col·làgena IC: reducció PG	C: organitzats en columnes, cèl·lules actives PCM: disminució PG i fibretes de col·lagen IC: normal
II	Desorganització i lesió inicial de la xarxa de fibril·lar organitzada	C: necròtics IC: eixamplament i lesió de la xarxa col·làgena. Disminució PG. Presència de cossos densos.	C: organitzats en grups, cèl·lules actives PCM: normal IC: normal
III	Fissures i fibril·lació	C: absents IC: fibres de col·lagen degradades, apareixen dipòsits amorfs electrondensos	C: organitzats en petits clusters, cèl·lules normals PCM: normal IC: eixamplament de xarxa col·làgena
IV	Fissures profundes, detritus, cèl·lules inflamatoòries, xarxa de fibrina	Matriu degradada, àrees extenses amb dipòsits amorfs	C: organitzats en grans clusters polimorfs de cèl·lules actives, patològiques i necròtiques PCM: disminució de col·lagen i PG IC: destrucció de xarxa col·làgena, disminució PG, cossos densos

**Taula 2.** Classificació de les fases inicials de l'artrosi segons Hesse (1990). C = condrocits, IC = matriu intercel·lular, PCM = matriu pericel·lular.

## REPARACIÓ DEL CARTÍLAG ARTICULAR

El cartílag articular no té la capacitat de reparació d'altres teixits per continuar essent funcional. La seva avascularitat i la manca d'un grup de cèl·lules indiferenciades fan la seva reparació molt difícil. En general, s'accepta que les laceracions del cartílag fins la zona calcificada no són reparables (Bentley 1984, Calandruccio 1962, Campbell 1969, Cheung 1978, Mankin 1982, Meachim 1963, Redfern 1851). Però quan una lesió penetra fins l'os subcondral, les cèl·lules mesenquimals de l'os poden crear un teixit de regeneració fibrocartilaginós format principalment per col·lagen del tipus I (Furukawa 1980, Meachim 1971). A altres teixits del sistema esquelètic es forma col·lagen de tipus I al defecte creat per la lesió. Però el cartílag articular està format sobretot per col·lagen de tipus II que li confereix les seves especials característiques. El teixit cicatritzal format en aquest procés no conté col·lagen de tipus II en la quantitat ni forma adequades, encara que sí en conté (Cheung 1980), ni tampoc PG i altres molècules que formen el cartílag articular sa. Cal esmentar també, que quan es produeix experimentalment una lesió del cartílag es pot observar que els condrocits comencen a sintetitzar col·lagen de tipus I i III (Goldwasser 1982, von der Mark 1990).

En altres teixits, quan es produeix una lesió s'inicia una reacció inflamatòria i pels vasos arriben cèl·lules que inicien la reparació de la lesió. Això no passa al cartílag perquè no té vasos. Aquesta resposta inflamatòria a altres teixits indueix la migració de cèl·lules indiferenciades que començaran la remodelació de la lesió i faran desaparèixer el teixit necròtic.

Al cartílag tampoc existeixen aquestes cèl·lules indiferenciades i no tenen cap manera d'arribar-hi espontàniament. Recentment, s'ha demostrat que això no és del tot veritat perquè s'ha documentat la migració de cèl·lules sinovials al lloc de lesió (Hunziker 1998). I ja s'havia observat una evolució diferent de lesions creades experimentalment en animals al centre d'una superfície articular o a la perifèria (Thompson 1975).

En els models experimentals d'artrosi en diferents animals per producció de laceracions superficials, s'ha observat la mort cel·lular al voltant d'aquestes laceracions i disminució de GAG de la matriu en el que seria una fase inicial de necrosi. Aquests canvis s'observen també a fases inicials de l'artrosi humana (Bentley 1984a). A les 24 hores augmenta el metabolisme dels condrocits viables adjacents, demostrat per augment de la fixació de sulfat i glicina-<sup>3</sup>H. El primer indica un augment de la síntesi de GAG i el segon una augment de la síntesi proteica. També augmenta la síntesi d'ADN que indica un augment de proliferació cel·lular (Mankin 1982). Després d'una o dues setmanes tots els valors disminueixen a nivells equivalents als dels casos control o a les articulacions normals. I a llarg termini no s'aprecia guariment ni augment de la lesió.

Després d'una lesió del cartílag o a l'artrosi, alguns condrocits del cartílag adult sí que responen augmentant la seva activitat metabòlica (Bentley 1984b) però la seva resposta és limitada i no hi ha proves que aquestes cèl·lules puguin migrar cap el lloc de la lesió. A més a més, aquests condrocits adults probablement tenen una capacitat limitada per incrementar la síntesi de matriu. La seva activitat metabòlica és suficient per mantenir la matriu que els envolta però no per reparar un defecte extens.

Podem concloure que la resposta reparadora que es dona en el si del cartílag quan es lesiona prové de tres fonts: os, sinovial i cartílag. Però no és capaç de tornar el cartílag al seu estat original.

La importància clínica de les lesions del cartílag articular ha impulsat la investigació de tècniques per reparar les lesions d'aquest teixit (Burwell 1970, 1985), o frenar la seva degeneració, i algunes d'elles s'han aplicat a l'ésser humà sense tenir massa clar el seu efecte beneficiós per manca d'una evidència científica suficient (Buckwalter 1999b). El rentat i neteja articular elimina teixits degenerats i fragment de teixit lliures que poden interferir la funció articular. Això produeix un efecte temporal d'alleujament de les molèsties però acostumen a tornar a aparèixer (Baumgaertner 1990, Jackson 1988, Krämer 1988). La injecció intraarticular d'àcid hialurònic s'utilitza des de fa anys de forma empírica sense tenir clar actualment el seu mecanisme d'actuació encara que experimentalment sembla frenar les lesions observades a l'artrosi (Armstrong 1994).

Les osteotomies s'han utilitzat per corregir defectes d'alineació d'extremitats o per canviar el repartiment de càrregues a una articulació (Cruess 1971, Trueta 1968) amb la intenció de disminuir el dolor. Els estudis clínics sobre aquestes tècniques han demostrat bons resultats inicials que empitjoren amb el pas del temps, però no semblen induir una reparació espontània del teixit cartilaginós ja lesionat.

La possibilitat de reparació a partir de cèl·lules provenint de l'os es va aprofitar en la tècnica descrita per Pridie (1959); creant lesions a través del cartílag i fins a l'os, es permet l'arribada de cèl·lules mesenquimals que produeixen un teixit cicatritzal (Shapiro 1993). Aquest teixit fibrocartilaginós de reparació només es produeix si s'arriba a os subcondral sagnant (Milgram 1985), i tot i tenir unes característiques diferents del cartílag articular hialí, i amb una funcionalitat molt menor, pot ser útil en alguns casos. En estudis en conills, s'ha vist que després de les perforacions el teixit de reparació conté col·lagen tipus I al cap de 3 setmanes. A partir de les 8 setmanes és de tipus II però en una quantitat i d'unes característiques diferents del cartílag sa; la quantitat de col·lagen de tipus I segueix essent més alta que en cartílag sa al cap d'un any (Furukawa 1980). Una tècnica similar a la de Pridie és la neteja artroscòpica de les lesions condrials, que segons els seus defensors produeix uns resultats clínics acceptables en pacients a partir de 60 anys perquè aplega la necessitat d'una artroplàstia total de genoll (Johnson 2001).

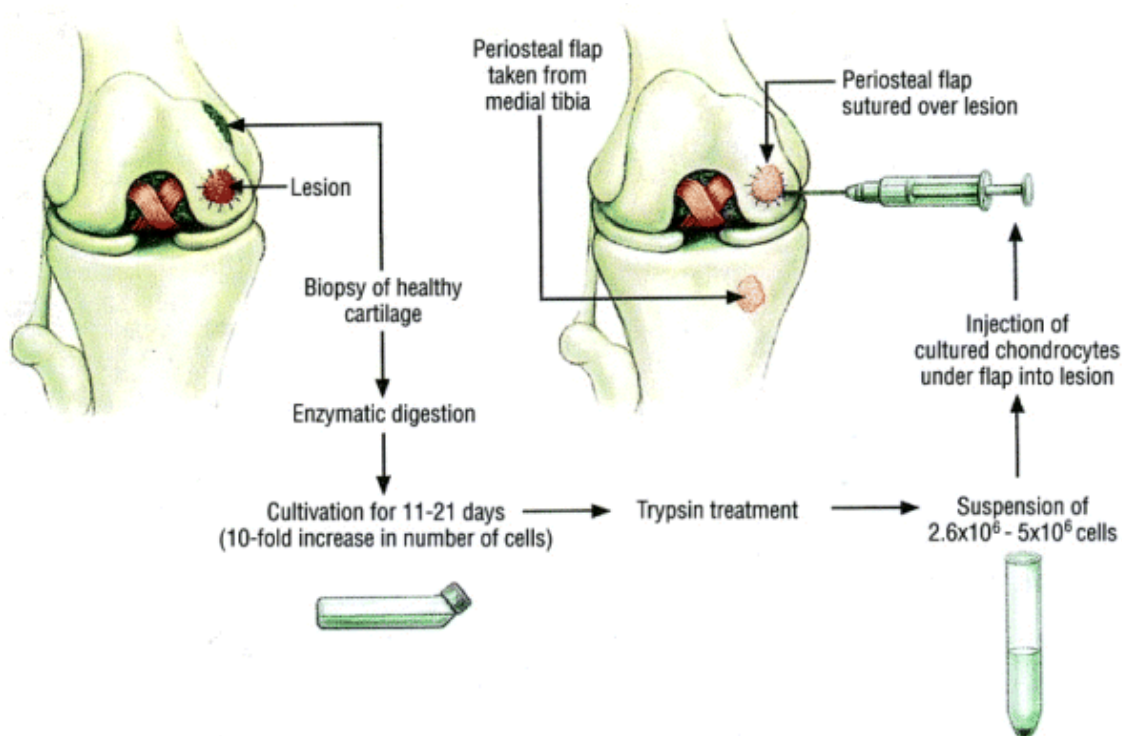
Més recentment, s'ha demostrat que la reparació de lesions superficials és possible al cartílag d'animals immadurs (Namba 1998). En un estudi amb fetus de be, les lesions superficials produïdes durant la gestació es reparaven *ad integrum* sense producció d'una cicatriu. Si aquesta possibilitat no es dona als animals adults vol dir que en néixer, o amb l'edat, les cèl·lules pluripotencials perden la seva capacitat d'arribar al cartílag per reparar-lo. No podem dir que aquestes cèl·lules desapareguin del cos perquè les cèl·lules pluripotencials d'origen mesenquimal són les encarregades de diferenciar-se en línies cel·lulars òssies o fibroses quan es lesionen aquests teixits. I per tant encara són presents a l'individu adult encara que no podem precisar en quina localització. En cas d'una lesió amb la producció d'un hematoma, aquestes cèl·lules arriben a través de la circulació sanguínia. Però en l'adult el teixit cartilaginós articular queda aïllat de la circulació. El reservori local de cèl·lules mesenquimals més proper a la zona articular i fisària sembla ser el pericondri. En aquestes cèl·lules s'ha detectat la

presència d'un receptor per al Factor de Creixement Fibroblàstic-3 (FCF-3 o FGF-3). Sembla que la presència del receptor seria clau per arribar a la zona cartilaginosa lesionada i després hauria de perdre aquest receptor per que la cèl·lula pogués diferenciar-se cap a la línia cartilaginosa (Robinson 1999). Aquesta seria una tècnica aplicable al trasplantament de cèl·lules cartilaginoses.

Es va investigar el periosti com a font de cèl·lules pluripotencials (Nakahara 1990) unides a una estructura (la pròpia membrana periòstica) que permetia la seva fixació a les vores de la lesió del cartílag (Homminga 1989, Rubak 1982b, Zarnett 1987) sense un resultat clínic en humans prou satisfactori. Però aquests estudis van permetre postular l'existència de factors bioquímics a l'articulació, alguns dels quals han estat identificats després, que indueixen la maduració de cèl·lules pluripotencials cap a la línia condral (Poussa 1981, Rubak 1982a). També la mobilització de l'articulació va ser un factor afavoridor d'aquest procés (Rubak 1982c, Salter 1989). Aquestes molècules obren un nou camp d'estudi per la reparació del cartílag articular amb la possibilitat de la seva utilització clínica (Lind 1996, Prockop 1997). Altres estudis han explorat la possibilitat de realitzar aquestes tècniques amb empelts de cèl·lules d'altres espècies (Homminga 1991).

En els darrers anys, les tècniques de reparació de lesions condral s'han basat en el trasplantament de cèl·lules cartilaginoses cultivades *in vitro* i trasplantades al lloc de la lesió (Breinan 1997, Mandelbaum 1998), i en el trasplantament de fragments osteocondral (Hangody 1999). Les primeres (figura 8) són tècniques molt cares amb un resultat final incert (Bentley 2000). Es basen en els treballs de Brittberg (1996) i consisteixen a recollir una mostra de teixit cartilaginós d'una zona donant del pacient i cultivar les cèl·lules per obtenir gran quantitat de condrocits *in vitro* que en una segona intervenció es col·loquen en el lloc de la lesió. Les cèl·lules cartilaginoses, en certes condicions, tenen la capacitat de reproduir-se. Però també segons les condicions en què es trobin expressaran unes característiques fenotípiques diferents (Green 1977). La fixació d'aquestes cèl·lules al cartílag presenta dificultats per la seva manca d'adherència al teixit (Lee 2000), pel que s'han hagut de desenvolupar tècniques d'enginyeria de teixits per oferir un suport estructural a aquestes cèl·lules.

Els resultats d'aquestes tècniques són variables i alguns autors aporten resultats molt satisfactoris, fins i tot des del punt de vista histològic i bioquímic (Ricardson 1999), mentre altres dubten de la qualitat del teixit obtingut en el pacient (Breinan 2000) i suggereixen continuar investigant aquesta tècnica per millorar-ne alguns aspectes (Breinan 2001). Una font alternativa de cèl·lules podria ser en el futur les cèl·lules pluripotencials del moll d'os cultivades amb unes condicions i factors de creixement que regulin la seva evolució cap a condrocits (Wakitani 1994). En els cultius cel·lulars a partir de moll d'os per obtenir cèl·lules pluripotencials cal l'addició de TGF- $\beta$ 1 per aconseguir la diferenciació cap a condrocits. Aquest factor també actua en la diferenciació de condrocits de les primitives condensacions mesenquimals. En cultius s'indueix així la transformació cap a condrocits hipertròfics a partir de cèl·lules pluripotencials del moll d'os (Yoo 1998). Això suposaria en la seva aplicació clínica una simplificació d'aquestes tècniques perquè es podrien obtenir les cèl·lules amb una punció de la cresta ilíaca i no amb una intervenció que impliqués una artrotomia.

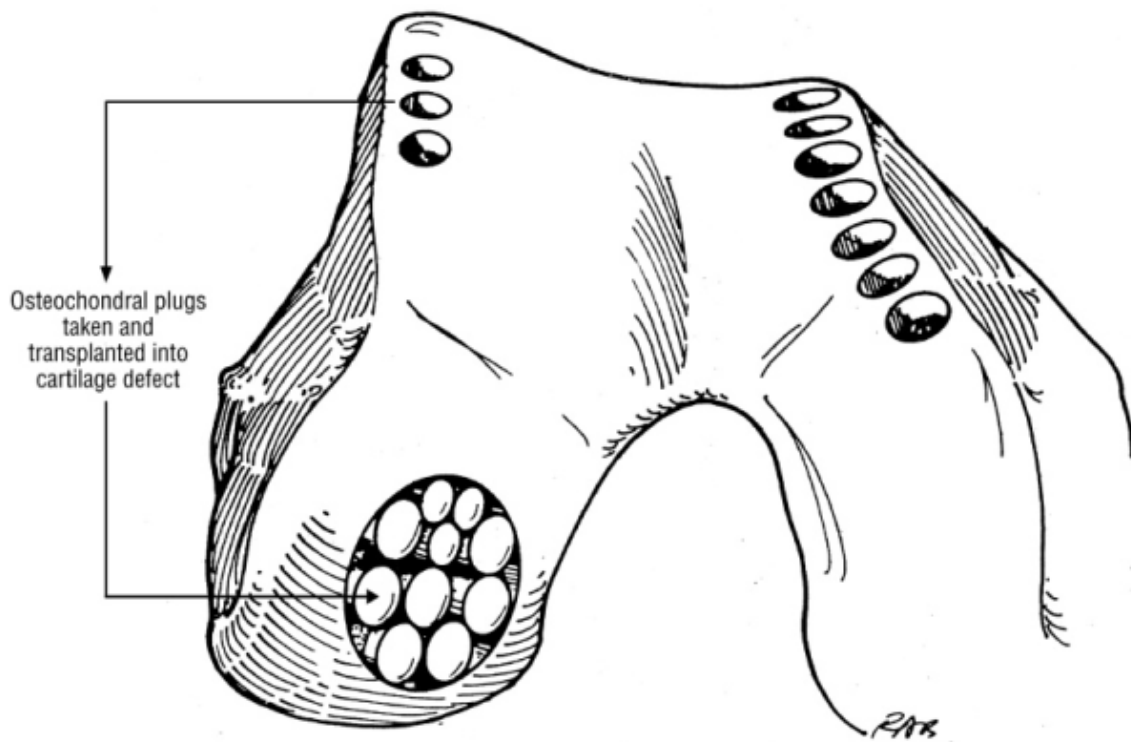


**Figura 8.** Tècnica del trasplantament de cèl·lules cartilaginoses (Mandelbaum 1998).

Els trasplantaments osteocondrals (figura 9) donen millor resultat si són autòlegs que si són homòlegs, és a dir, si el teixit trasplantat prové del mateix individu que si ve d'un altre individu de la mateixa espècie (Campbell 1963). Semblen actualment una bona alternativa però necessiten un lloc donant i es crea una lesió condral iatrògena, de la qual no coneixem exactament l'evolució (Merk 2000). Cal triar una zona donant amb unes característiques de curvatures semblants a la zona receptora i que després no rebi massa càrrega per no produir simptomatologia (Ahmad 2001). Sembla que els fragments ossis d'aquests empelts arriben a integrar-se a la zona receptora, però desconecem la viabilitat a llarg termini i la funció biomecànica de la porció cartilaginosa dels empelts (Buckwalter 1999b).

Les darreres tècniques aparegudes combinen la teràpia gènica i l'enginyeria de teixits per trobar sistemes de regenerar el cartílag articular (Mason 2000). I si deixem anar la imaginació podem pensar en la utilització de factors de creixement en una fase precoç de lesió cartilaginosa per estimular localment la reparació del cartílag abans de la destrucció de la xarxa col·làgena i prevenir així l'aparició de l'artrosi (Bentley 2000, Evans 2000, Sellers 1997). Estudis recents (Yoo 1998) han aconseguit la diferenciació de cèl·lules pluripotencials del moll d'os humanes cap a condrocits capaços de sintetitzar col·lagen de tipus II i PG utilitzant TGF- $\beta$ 1 *in vitro*.





**Figura 9.** Tècnica de la mosaicoplàstia (Hangody 1999).

Una altra possibilitat terapèutica en les lesions cartilaginoses poc evolucionades és l'aplicació d'un làser o ones de radiofreqüència amb l'objectiu d'allisar la superfície articular i potser segellar el teixit evitant el contacte de substàncies intraarticulars nocives pels condrocits i molècules de la matriu cartilaginosa. Això podria frenar el procés degeneratiu del cartílag encara que no el pugui aturar definitivament. D'aquesta manera els altres tractaments quirúrgics disponibles per a l'artrosi es podrien diferir i milloraria el conjunt del tractament per aquesta malaltia. Els estudis en aquest camp ofereixen bones perspectives per aquest tipus de tractament amb làser. En canvi, la utilització de la radiofreqüència serà objecte de debat en els propers anys pels dubtes sobre la seva seguretat en la utilització sobre el cartílag. Estudis recents demostren que la radiofreqüència amb sistemes bipolars produeix una important necrosi dels condrocits del teixit tractat amb aquesta tècnica. Els de sistema monopolar no semblen tenir aquest efecte de forma tant acusada (Edwards 2002).

---

**HIPÒTESI I OBJECTIU**

## **HIPÒTESI**

El model proposat es basa en la creació d'una artrosi macroscòpica a partir de la lesió de la superfície articular de l'animal d'experimentació (Buckwalter 1990a) que hauria de tenir els paràmetres bioquímics i de resposta cel·lular comparables als que es donen a l'artrosi humana. Això hauria de permetre una millor comprensió del procés global que es produeix en l'artrosi humana precoç. De tota manera, cal destacar que aquest model serviria per qualsevol investigació sobre les fases inicials de l'artrosi.

El model animal es basa en la creació de lesions superficials al cartílag articular de bens. S'ha demostrat (Hunziker 1996, 1998) que aquestes lesions no guareixen espontàniament; per tant després de 4 setmanes encara haurien de ser presents. Segons els treballs de Meachim (1963) en conills, aquestes lesions tampoc haurien de progressar cap a graus més avançats de l'artrosi.

## **OBJECTIU**

Les característiques del cartílag articular humà són diferents de les de qualsevol dels animals utilitzats en experimentació. Però com que aquests estudis només es poden realitzar en un model animal, hem de buscar el que sigui més semblant al cartílag articular humà. En aquest sentit, el cartílag articular del genoll dels bens es troba en una articulació de càrrega com el genoll humà. I en aquest animal el cartílag és més semblant histològicament a l'humà que el del conill, per exemple, que és dels més utilitzats en estudis experimentals (Hunziker 1999).

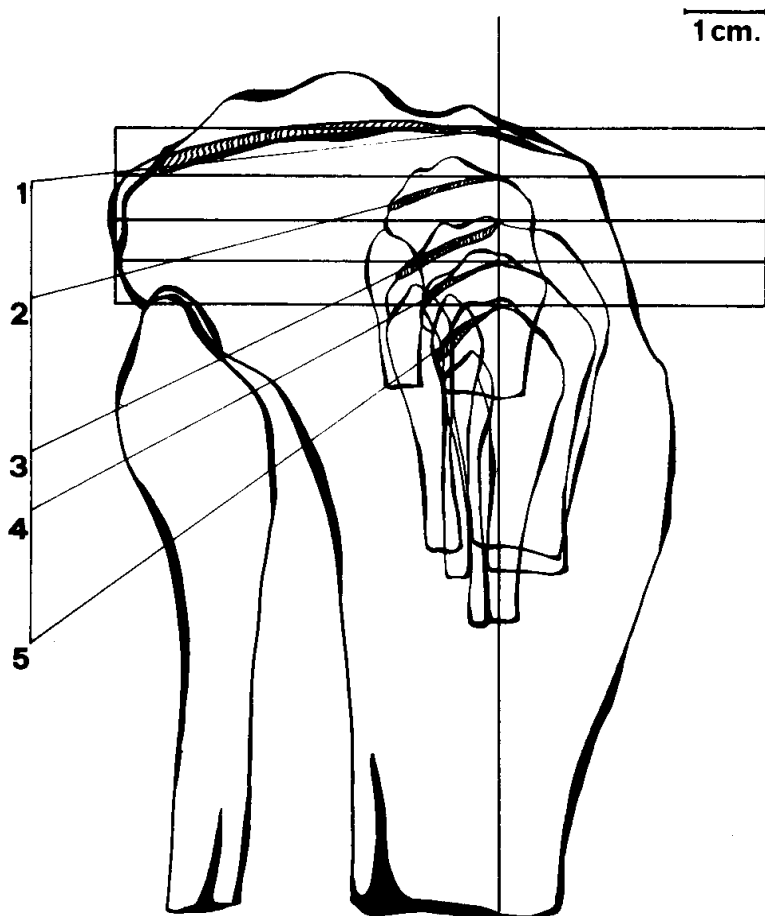
L'objectiu d'aquest projecte és demostrar amb la creació d'una artrosi mecànica en un model animal, que els resultats obtinguts amb aquest model poden ser superposats a la malaltia humana. Per això, aquest model representa un primer pas pel desenvolupament de noves tècniques pel tractament d'estadis inicials de l'artrosi que tindran una aplicació clínica quan es demostrï la seva utilitat.



---

## **MATERIAL I MÈTODE**

La utilització dels animals d'experimentació és fonamental per al desenvolupament de noves tècniques en el tractament de les lesions del cartílag. Però cap animal proporciona un model prou proper a l'organisme humà per assegurar que els resultats obtinguts amb el seu estudi seran iguals a la resposta que una determinada tècnica pot donar en l'ésser humà. Els models animals presenten en aquest sentit limitacions quant a les característiques del cartílag articular, de les articulacions sinovials i característiques de la càrrega respecte a les articulacions humanes. Amb les lesions condrials produïdes en animals d'experimentació és difícil crear models d'artrosi amb una evolució previsible per poder extreure'n conclusions aplicables a l'ésser humà però fins ara són el més proper que tenim per a l'estudi de les lesions del cartílag articular. Per contra, les lesions agudes en els animals d'experimentació proporcionen un model prou bo de les lesions agudes en l'humà (Buckwalter 1999b). En el cas concret del genoll, no hi ha cap animal que ofereixi un model utilitzable de forma universal per fer-hi totes les proves experimentals (figura 10). Per això cal triar per a cada estudi l'animal que presenti la similitud més important per l'aspecte concret a estudiar, tenint en compte també les dificultats tècniques que comporta l'elecció de cada espècie animal (Gómez-Barrena 1991).



**Figura 10.** Comparació a escala de la tíbia proximal de l'home (1), macac (2), gos (3), gat (4) i conill (5) indicant la inclinació anteroposterior de la superfície articular del platet tibial a cadascun d'ells. (Gómez Barrena 1991)

Hi ha molts estudis experimentals que s'han fet amb genolls de conills, però aquests animals no suporten el pes del cos als genolls com els humans. Per això hem triat una espècie animal que en aquest sentit s'assembla més als humans, per crear un model experimental dels estadis inicials de l'artrosi.

## CREACIÓ DEL MODEL EXPERIMENTAL

S'ha fet l'estudi amb 15 bens adults de 3 anys d'edat d'un centre veterinari a Suïssa. Cada animal va ser identificat amb una placa a l'orella i a la gàbia. Van ser alimentats i se'ls va permetre beure fins 24 hores abans de la intervenció. La premedicació va incloure 0,5ml de Rompun® (Xylacina) i 2ml d'atropina per via intramuscular. Després se'ls va administrar 6-15ml de Pentothal® intravenós, es van intubar i es va mantenir l'anestèsia general amb halotà, N<sub>2</sub>O i O<sub>2</sub>.

En condicions d'asèpsia, el grup d'animals és sotmès a una intervenció al genoll esquerre amb artrotomia paratrotuliana externa per crear una lesió condral amb una llima als dos còndils femorals i ròtula sense lesionar tot el gruix de cartílag. En cap cas es pretén arribar a l'os subcondral. El genoll dret servirà de control. Al cap de 2 mesos es practica la segona intervenció amb artroscòpia. Una recerca prèvia va demostrar la impossibilitat de practicar la segona artroscòpia al cap d'un mes degut a la fibrosi i hemartrosi, probablement pel sagnat postquirúrgic. S'aplica el làser a 1cm<sup>2</sup> d'una de les superfícies articulars de la ròtula, la tròclea femoral, la part anterior del còndil medial i la part posterior del mateix còndil. El còndil extern no es tracta. Un mapa articular defineix les diferents zones. Els làsers utilitzats són d'Holmi i Erbi a 12Hz amb una energia de 0'6, 0'8, 1 i 1'6 J pel primer i 120 i 180mJ pel segon que s'apliquen a diferents zones del genoll segons una taula confeccionada a aquest efecte. Les zones tractades amb el làser havien estat lesionades prèviament en la intervenció anterior feta per artrotomia. Els animals es divideixen en 3 subgrups de 4 animals per ser sacrificats sota anestèsia general als 6 mesos, un any i dos anys i un subgrup de 3 animals per ser sacrificats quatre anys després de la segona intervenció. De fet, els tres animals per ser sacrificats als 4 anys eren els de reserva però si no eren utilitzats abans servirien com a un quart grup amb un seguiment més llarg. Després de cada intervenció se'ls permet la deambulació amb càrrega. Durant 6 dies després de les intervencions se'ls va administrar paracetamol per analgèsia.

El genoll esquerre dels animals va servir per l'estudi experimental i el dret d'alguns dels animals es va utilitzar per obtenir mostres per servir de control. Des del punt de vista metodològic hauria estat millor disposar de bens sans per utilitzar com a controls, però el comitè d'avaluació dels estudis que es fan amb animals a Suïssa limita al màxim els animals a utilitzar. Aquesta metodologia implica la suposició que el genoll contralateral dels animals era "normal". Altres estudis també han aplicat aquesta metodologia (Amiel 1985) perquè les dades no mostren alteracions del cartílag del genoll presumptament sa (Matyas 1995) ni alteracions en la marxa dels animals (O'Connor 1989) que facin pensar que l'extremitat utilitzada com a control rebi unes càrregues no fisiològiques que puguin alterar el cartílag.

Els animals han estat a cura d'un equip veterinari a Suïssa, on van ser sacrificats amb anestèsia general i es van fer les preparacions per a l'estudi histològic i bioquímic. Després de sacrificar els animals es va extreure l'epífisi distal del fèmur en bloc, la ròtula i l'epífisi proximal de la tibia en bloc.

## MATERIAL

Les mostres dels animals s'han dividit en cinc grups: control (format per cinc mostres), el grup d'animals sacrificats a les 28 setmanes (format per quatre mostres), el de 48 setmanes (format per quatre mostres), el de 104 setmanes (format per tres mostres) i el de 208 setmanes (amb una sola mostra). Els resultats obtinguts en l'estudi histològic quantitatiu, bioquímic i l'estudi de la línia osteocondral s'han expressat numèricament en una taula per a cada animal donant un total de 17 taules.

Les mostres per a l'estudi histològic s'han agrupat en un grup control i quatre grups d'animals segons el temps d'evolució de l'artrosi com s'indica en el quadre següent.

Controls	28 setmanes	48 setmanes	104 setmanes	216 setmanes
608-9R	595-9L	589-9L	354C	377-4L
589-9R	526-9L	611-9L	522C	633-1L
608-4R	554-9L	608-9L	540C	
589-4R	487-9L	606-9L		
606-9R				

Cada numeració correspon a un animal diferent i les lletres indiquen diferents zones d'una mateixa articulació. S'han confeccionat unes taules de resultats per a cada grup després de l'estudi qualitatiu i una taula per a cada animal a l'estudi quantitatiu.

## MÈTODES

### 1. Tècnica histològica

Les mostres histològiques han estat preparades al servei d'Anatomia Patològica del Inselspital de Berna (Cap de Servei: Dr. Schaffner) i estudiades a Barcelona en col·laboració amb el departament d'Anatomia Patològica de l'Hospital de la Vall d'Hebron.

Les mostres dels bens es treuen amb una serra cilíndrica refrigerada amb aigua per obtenir uns blocs també cilíndrics que són dividits longitudinalment per les diferents tincions i mesures bioquímiques. Les mostres de cartílag amb l'os subcondral es van fixar en solució de formaldehid al 5% que contenia clorur de cetilpiridini. Es van deshidratar amb alcohol. El pas següent va ser la descalcificació amb àcid fòrmic al 5% i inclusió en metilmetacrilat per la seva secció amb un microtom. Les seccions resultants de 5µm es van rehidratar en solucions seriades d'alcohol i es van tenyir.

S'han utilitzat les tincions blau alcian, hematoxilina-eosina, tricròmic de Masson i safranina O. La safranina O és un colorant ortocromàtic que tenyeix selectivament glucopolisacàrids àcids i la intensitat del color és aproximadament proporcional al contingut d'aquest material al teixit (Mankin 1970). Per aquest motiu es va utilitzar en els primers dos grups d'animals (els sacrificats a les 24 i 48 setmanes). Els dos darrers grups (de les 104 i 208 setmanes) es van tenyir utilitzant les altres tincions, ja que només es pretenia fer un estudi estructural i no de concentració de PG (Coumts 1992). El



tricolor de Masson tenyeix el col·lagen d'un teixit que treballa en compressió, com és el de tipus II del cartílag articular, de color verd. En canvi si el col·lagen es troba a un teixit on treballa a tensió, com el de tipus III de l'os, es tenyeix de color vermell (Benjamin 1990).

## 2. Estudi histològic i histomorfomètric

a) Com en estudis previs (Vignon 1983), per l'estudi histològic de totes les mostres utilitzades en l'estudi hem analitzat les zones superficial i profunda del teixit cartilaginós amb el microscopi òptic. Hem tractat d'identificar la cel·lularitat, els *clusters* de condrocits, les àrees de necrosi, la neovascularització del cartílag, les característiques de la tinció de la matriu amb safranina O i analitzar la seva distribució en les diferents zones o en relació a altres variables categòriques, com per exemple fissures i fibrocartílag. Les diferents categories d'elements hístics s'han recollit en unes taules i se'ls ha assignat una valoració subjectiva amb signes + i - (taules 4, 5 i 6).



**Figura 11.** Microscopi òptic amb pantalla.

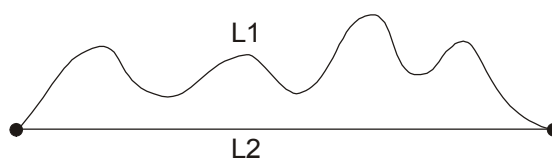
b) L'anàlisi histològica quantitativa, o histomorfometria, es va realitzar de forma manual amb una reixeta sobre la pantalla d'un microscopi òptic tipus VISOPAN equipat amb pantalla de dibuix (figura 11). Es va treballar amb un augment de 24x. La quadrícula de 10 per 10 presenta 100 punts on interseccionen les línies i permeten fer 100

mesures sobre la superfície a estudiar (Nehrer 1999). En cadascun d'aquests punts s'identifica l'element hístic que hi trobem: cèl·lula aïllada, *cluster* de cèl·lules, matriu, teixit fibrós, necrosi, vas sanguini, fissuració del teixit (làmines 2 a 4). Això permet quantificar en tant per cent la presència de cadascun dels elements per cada camp microscòpic estudiat. Aquestes dades queden reflectides a les taules de resultats de les pàgines 59 a 76.

A cada secció de teixit s'ha fet un estudi sistemàtic de tota la superfície del cartílag i això permet obtenir un valor mitjà de cadascun dels elements histològics estudiats. Els resultats es recullen en un taula per cada mostra i aquests valors es comparen amb els obtinguts en els animals dels diferents subgrups.

### 3. Mètode d'anàlisi d'imatge

Per obtenir una altra mesura del resultat de la lesió mecànica en el nostre model experimental es va dissenyar un mètode d'anàlisi de la línia osteocondral per ordinador. S'ha estudiat l'índex de rugositat definit com el quocient entre la longitud real (L1) de la línia osteocondral i la distància euclidiana entre els dos extrems de la mateixa (L2) (figura 12).



**Figura 12.** Càlcul de l'índex de rugositat.

Per aquest estudi s'han captat les imatges a partir de les preparacions histològiques tenyides amb el mètode de safranina O mitjançant una càmera de vídeo 3CCD en color de Sony (model DXC-950P Power HAD) muntada sobre un microscopi Olympus. La càmera està unida a una placa digitalitzadora Matrox MVP-NB (Matrox Electronics Systems Ltd, Quebec, Canadà) instal·lada en un ordinador personal Compaq Deskpro PC 360/25 (figura 13). La llum polaritzada permet més contrast de la imatge que es va digitalitzar a 256x256 pixels (làmina 5). Posteriorment es va imprimir la imatge digital en blanc i negre en la que es va resseguir la línia osteocondral amb un retolador. Després es va escanejar la imatge de la línia obtinguda i calcada en un full blanc. La imatge es va processar en el mateix ordinador utilitzat per la captació de la imatge histològica mitjançant el programa d'anàlisi d'imatge *Scion Image* versió Beta 4.0.2 (Scion Corporation) basat en *NIH Image* per a MacIntosh de Wayne Rasband (National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA).



**Figura 13.** Microscopi òptic amb càmera de video connectada a l'ordinador.

#### 4. Proves bioquímiques

Les mesures bioquímiques incloent contingut hídric, galactosamina (GalN) i glucosamina (GlcN), queratan sulfat (QS), dermatan sulfat (DS) i hexosamina (Hex), foren facilitades per l'equip de Suïssa per tal d'integrar tota la informació a la Tesi (Fischer 1994, 1996). La concentració d'hexosamina dóna idea de la concentració total de GAG. La galactosamina forma part del condroitin sulfat i la glucosamina del queratan sulfat (Roughley 1980). La mesura de les seves concentracions dóna informació sobre la quantitat present en la mostra estudiada del GAG del que formen part (Meachim 1969, Rosenberg 1984). El contingut d'aigua s'expressa com a tant per cent respecte al pes total del teixit. La galactosamina i glucosamina s'expressen en nanomols (nmol) en relació al contingut total d'hexosamines en nmol. Les hexosamines s'expressen en nmol en relació al pes total de teixit sec en mil·ligrams (mg). El queratan sulfat s'expressa en picomols (pmol) en relació al pes total de la mostra en mil·ligram. Finalment, el dermatan sulfat s'expressa com a tant per cent dels GAG totals.

Les mostres per a l'estudi bioquímic són purament cartilaginoses mantingudes amb sèrum salí 0.9% a  $-90^{\circ}\text{C}$  (Seibel 1989). Es van congelar després de la seva obtenció. Al moment d'utilitzar-les, es van descongelar a temperatura ambient, i el teixit cartilaginós es va rentar amb sèrum fisiològic, pulveritzar amb nitrogen líquid i liofilitzar. Les mostres es van separar en quantitats adequades de teixit per a la seva anàlisi. Després de la liofilització, es va analitzar el contingut d'hexosamina total, de galactosamina, glucosamina, queratan sulfat, dermatan sulfat i contingut d'aigua.

La quantitat relativa d'aigua de les mostres de cartílag es va calcular a partir de la diferència entre el pes moll i el pes sec. La proteòlisi amb papaïna va precedir la hidròlisi àcida completa de les mostres per obtenir la concentració d'hexosamina incloent la galactosamina i la glucosamina (Bayliss 1983). Mostres de 2 a 4mg de teixit liofilitzat es van hidrolitzar en 1ml d'àcid 6-N hidroclòric a 100° en aigua bullint durant cinc hores. Els hidrolitzats àcids es van assecar en un assecador de buit i es van tractar amb la tècnica de Boas. La determinació d'hexosamina es va fer amb la reacció modificada d'Elson-Morgan i el resultat es van expressar en nanomol d'hexosamina per mil·ligram de teixit sec. En el cas de la galactosamina i glucosamina es va expressar el resultat en nanomol respecte a nanomol d'hexosamina.

Els glicosaminoglicans es van enriquir per cromatografia d'intercanvi aniónic. Després de la diàlisi, es va mesurar el contingut de queratan sulfat per immunohistoquímia utilitzant anticossos monoclonals, i els resultats es van expressar en relació al pes sec total. A les mostres per immunoassaig utilitzant anticossos monoclonals s'ha determinat, a través dels seus epitops, el contingut del queratan sulfat que s'ha relacionat amb el pes sec total (Fischer 1994, 1996).

El contingut de dermatan sulfat en relació al pes total de GAG es va calcular mesurant el contingut en disacàrids, que es van alliberar després de la incubació amb condroitinasa ABC i AC (Sampaio 1988).

## 5. Mètode estadístic

Per a l'estudi estadístic, els resultats dels paràmetres estudiats s'han comparat entre els cinc grups i s'ha buscat la significació estadística d'aquestes diferències utilitzant els programes S-Plus 6 i SPSS 10.0 per Windows. S'ha utilitzat un nivell de confiança del 5% en totes les proves estadístiques.

### 5.1 *Mesures histològiques*

A l'hora de fer els anàlisis d'aquest grup de variables, si admetem que els genolls no tractats no es veuen afectats pel fet que l'animal té un altre genoll tractat i per tant es poden considerar com individus diferents, disposarem d'un grup no tractat de control. Encara que s'hagin fet les simplificacions esmentades, sí que hem tingut en compte la variabilitat deguda als individus. Això s'ha fet introduint als models estadístics la variable individu com a variable aleatòria. A més també s'han considerat com individus diferents les mesures fetes a un mateix individu en zones diferents.

Les mesures histològiques s'han considerat distribuïdes segons la llei binomial ja que són mesures que compten el nombre d'aparicions d'un esdeveniment (presència d'un element del teixit) respecte a un nombre màxim.

Pels motius expressats prèviament, la metodologia estadística a utilitzar no pot ser l'anàlisi de la variància. En aquest cas s'han utilitzat els models lineals generalitzats mixtes o GLMM. Els resultats obtinguts s'expressaran en termes de *odds ratio* acompanyant-los dels seus intervals de confiança al 95%.

El problema trobat en l'anàlisi d'algunes d'aquestes variable és el fet de que hi ha grups en els quals no s'ha observat cap individu que tingui presència del tipus de paràmetre estudiat en cada moment. En aquests casos s'ha afegit l'observació d'un paràmetre o element híctic del tipus estudiat (cèl·lules, *clusters*, etc.) en els grups que no en tenien cap, de forma que el model estadístic sigui calculable. Això no obstant no evita que els resultats estadístics siguin de poca qualitat (hi ha molta variabilitat) i que per tant no sigui recomanable la interpretació dels *odds ratio* com a magnitud de la associació sinó com a indicador de la presència (en alguns casos dubtosa) d'associació.

L'*odds ratio* mesura l'associació entre la variable resposta (presència de x en la mostra histològica) i la variable explicativa. Quant major és el valor de l'*odds ratio* més associades estan les variables. En el cas de que la probabilitat d'observar un valor positiu en la resposta (presència de x) sigui petita llavors els *odds ratio* es poden interpretar com a risc relatiu. I llavors es pot parlar en termes de risc. Com a regla a recordar és el fet de que un *odds ratio* és significatiu quan l'interval de confiança no inclou l'1. A les taules que es presenten a continuació s'han marcat amb negreta els *odds ratio* que són significatius segons aquest criteri.

Junt amb els resultats estadístics de cada mesura histològica s'han realitzat uns gràfics en els que veiem les proporcions segons les variables explicatives.

### 5.2 Índex de rugositat

Per realitzar l'anàlisi d'aquesta variable (rugositat) s'ha utilitzat un model lineal mixt considerant com a variable explicativa el grup (control, 28 setmanes, 48 setmanes i 104 setmanes) i com a factor aleatori l'individu.

### 5.3 Mesures bioquímiques

Per contrastar si hi havia diferències en les mesures bioquímiques dels individus tractats i no tractats de les 28 i 48 setmanes s'ha utilitzat l'anàlisi de la variància (ANOVA) on la variable resposta ha estat la mesura bioquímica. En aquest cas s'ha pogut utilitzar aquesta tècnica estadística perquè les variables resposta no són proporcions i podem suposar que es distribuiran com una Normal.

**RESULTATS**

---

Inicialment es va plantejar l'estudi amb 3 grups de 4 animals i un quart grup de 3 animals que havien de servir com a reserva. Si no calia sacrificar abans els animals del darrer grup, servirien per valorar l'evolució de les lesions al cap de 4 anys.

Un dels animals va presentar una infecció postquirúrgica del genoll que el va fer inservible per a l'estudi i va significar retirar un animal del quart grup d'animals amb artrosi experimental.

Problemes tècnics amb el material histològic van fer-nos descartar també el material d'un dels animals del tercer grup (de 104 setmanes) i un del quart (633-1L). Finalment es va descartar el quart grup, de les 208 setmanes, perquè va quedar amb un sol individu (p. 75).

Així doncs, s'ha pogut utilitzar el 80% dels animals de l'estudi i un 20% no s'ha aprofitat. Alguns estudis refereixen una taxa d'aprofitament/ utilització dels animals d'experimentació de només el 50% (Amiel 1985).

En un cas (nº 487) s'observa un defecte total del cartílag hialí recobert amb un teixit fibrós que prové de l'os subcondral. En aquest teixit les característiques són de fibrocartílag perquè les cèl·lules no adopten la típica estructura en columnes del cartílag hialí (agrupacions isogèniques axials), sinó que formen agrupacions isogèniques en corona (Tercedor 1987). Al microscopi òptic, les cèl·lules del fibrocartílag semblen condrocits o fibroblastes, però sovint es difícil dir de quin dels dos tipus es tracta (Benjamin 1990); la matriu és més densa i engloba un major nombre de cèl·lules que en el cartílag hialí. En canvi la matriu de cartílag hialí es tenyeix amb safranina O (Nehrer 1999), no presenta fibres de col·lagen visibles a microscopia òptica i engloba condrocits situats en llacunes madures a diferència del teixit fibrós que presenta una matriu de fibres de col·lagen de tipus I associades a cèl·lules el·líptiques. Si la lesió produïda experimentalment arriba a l'os subcondral es produeix una migració de cèl·lules pluripotencials de la part més profunda que tapa el defecte. Primer un coall ocupa el defecte; després és substituït per un teixit fibrós que arriba a la superfície articular no lesionada, restablint la seva continuïtat, i es diferencia a fibrocartílag posteriorment, encara que si el defecte és massa extens (>3mm) pot quedar una concavitat a la superfície (Jackson 2001). Experimentalment s'ha vist que, en cabres, lesions de <3mm a la tròclea femoral poden reparar-se del tot (Butnariu-Ephrat 1996). Per l'estudi histomorfomètric s'ha descartat aquesta zona del cas 487 perquè no correspon a un model d'artrosi precoç.

A les capes més profundes, i concretament a la capa de cartílag calcificada, s'observa en el nostre model d'artrosi l'aparició d'os haversià. Aquesta característica no s'ha pogut reflectir a l'estudi quantitatiu per la impossibilitat de determinar amb aquest mètode on acaba el cartílag i on comença l'os subcondral. Aquest fet ja esmentat a la literatura es pot atribuir a canvis en els proteoglicans que indueixen l'ossificació del cartílag de manera similar al fenomen que té lloc en l'ossificació encondral (Bullough 1983, Franzén 1982). Llavors a l'artrosi, per canvis en els PG es podria produir un avenç de la línia osteocondral cap a la superfície articular.

## ESTUDI QUALITATIU

A l'estudi qualitatiu s'han valorat els següents paràmetres per a cada mostra a nivell superficial i profund del cartílag articular: la presència de cèl·lules (indicades per signes +) o bé de necrosi (indicada amb signes -), la presència de *clusters* (indicada amb el signe o), la tinció de la matriu pericel·lular i interterritorial (indicada amb signes + segons la seva intensitat), la presència de fibrocartílag i de vasos (indicats els dos amb els signes + i - segons la seva presència o absència respectivament). Finalment s'ha valorat l'aspecte de la línia d'aigua o *tidemark*.

### Grup control

En el grup control s'observa un **patró difús** de tinció de les matrius pericel·lular i interterritorial a la superfície (++/+ vs. +++/++ o bé ++ vs. ++ o + vs. +).

A la part profunda el **patró de tinció pericel·lular** predomina sobre la tinció interterritorial a la zona calcificada (++ vs. +) o és **difús** a la zona radial (làmines 6 i 7).

		608-9R	608-4R	589-4R	606-9R	589-9R
Superficial	Cèl·lules/necrosi	+	+	+	+	+
	Matriu pericel.	+++	++	+++	+	++
	Matriu interterr.	+++	+++	+++	+	++
Profund	Cèl·lules/necrosi	+	+	+	+	+
	Matriu pericel.	++	++	++	++	++
	Matriu interterr.	+++	+++	+++	+++	+++
	Vasos	-	-	+/-	-	-
	<i>Tidemark</i>	Contínua amb 2-6 línies				

**Taula 3.** Estudi qualitatiu del grup control. El patró superficial difús de tinció de les matrius pericel·lular i intersticial ve representat pels símbols: +++/++ vs. +++/+, ++ vs. ++, + vs. +.

### Grup 28 setmanes

En el grup de 28 setmanes s'observa un predomini del **patró de tinció pericel·lular** a la zona superficial associat, en general, als *clusters*. I a la zona profunda es manté el patró com en els controls. La cel·lularitat augmenta a la superfície fonamentalment a expenses dels *clusters*, excepte en els casos que mostren un teixit de reparació fibrocartilaginós (làmina 4) ric en cèl·lules i pobre en matriu que es prolonga a la profunditat del cartílag (595-9L i 487-9L). Els vasos augmenten de forma més important al voltant de les zones de fibrocartílag i el seu augment s'associa a discontinuïtat de la *tidemark* suggerint una relació dels tres elements en la regeneració d'una lesió del cartílag articular.



		526-9L	554-9L	595-9L	487-9L
Superficial	Cèl·lules/ <i>cluster</i> /necrosi	ooo/---	+/oo/-	++/o/-	++/o
	Matriu pericel.	++	++	++	+
	Matriu interterr.	+	+	+	+
	Fibrocartílag	-	-	+	+
	Vasos	-	-	+	++
Profund	Cèl·lules/ <i>cluster</i> /necrosi	+	+/-	++	++
	Matriu pericel.	++	++	++	+
	Matriu interterr.	++/+	++/+	++/+	+
	Fibrocartílag	-	-	+	++
	Vasos	+	+	++	+++
	<i>Tidemark</i>	Contínua	Contínua	Discontínua	Discontínua

**Taula 4.** Estudi qualitatiu del grup de 28 setmanes. A la zona profunda, com en els controls, el patró de tinció pericel·lular predomina sobre el patró interterritorial a la zona calcificada (++ vs. +) o és difús a la zona radial (++ vs. ++ o bé + vs. +).

#### Grup 48 setmanes

En el grup de 48 setmanes s'observa un predomini del **patró de tinció pericel·lular** a la zona superficial, però en els casos 606-9L i 589-9L està associat als *clusters* exclusivament. I a la zona profunda es manté el patró com en els controls; en particular en els casos 606-9L i 611-9L es manté aquest patró a les zones adjacents al fibrocartílag. D'altra banda, com en el grup anterior, la reparació amb teixit fibrocartilaginós comporta augment de la cel·lularitat i de la neovascularització amb discontinuïtat de la *tidemark* al mateix nivell.

		606-9L	608-9L	611-9L	589-9L
Superficial	Cèl·lules/ <i>cluster</i> /necrosi	+++/o/--	+/oo/---	+++/oo/-	+/oo/-
	Matriu pericel.	+(* )	++	++	+(* )
	Matriu interterr.	+(* )	+	+	+(* )
	Fibrocartílag	++	-	+	-
	Vasos	-	-	-	-
Profund	Cèl·lules/ <i>cluster</i> /necrosi	+++/-	+/o/---	+++/o/-	+/o
	Matriu pericel.	++(**)	++	+/**	++
	Matriu interterr.	++(**)	++/+	+/**	++/+
	Fibrocartílag	++	-	+	-
	Vasos	++	-	++	+
	<i>Tidemark</i>	Discontínua	Contínua	Discontínua	Contínua

(\* ) Augment de la intensitat de la tinció al voltant dels *clusters* exclusivament.

(\*\* ) Patró difús excepte a les zones adjacents al fibrocartílag que mantenen el patró profund.

**Taula 5.** Estudi qualitatiu del grup de 48 setmanes. La tinció de la matriu pericel·lular manté el seu predomini a la superfície excepte al teixit fibrocartilaginós.

Grup 104 setmanes

En els casos de 104 setmanes no s'ha considerat la coloració de la matriu perquè les mostres d'aquest grup no van ser tenyides amb safranina O. La neovascularització també es va associar amb reparació fibrocartilaginosa i discontinuïtat de la *tidemark*. En tots aquests casos l'aprimament del teixit cartilaginós arribava a permetre l'exposició focal de l'os subcondral a la superfície articular. Per aquesta raó vam excloure finalment aquests casos del model d'artrosi precoç.

		354-C	522-C	540-C
Superficial	Fissures	+	+	+
	Cèl·lules/cluster/necrosi	+/--	+/o/-	+/oo/--
	Fibrocartílag	+++	++	+
	Vasos	-	-	-
Profund	Cèl·lules/cluster/necrosi	+/-	+	+
	Fibrocartílag	+++	-	-
	Vasos	+	+	++
	<i>Tidemark</i>	Discontínua	Discontínua	Discontínua

**Taula 6.** Estudi qualitatiu del grup de 104 setmanes.

**ESTUDI QUANTITATIU**

A l'estudi quantitatiu s'ha valorat la presència dels següents elements segons un percentatge expressat a les taules de resultats: cèl·lules, *clusters*, matriu, vasos, necrosi, fibrocartílag i fissures. Aquests paràmetres s'han numerat de l'1 al 7 per la zona superficial i amb la mateixa xifra i la lletra b per la zona profunda. A les taules també s'hi ha calculat la cel·lularitat total superficial i profunda i els valors màxim (M), mínim (m), mitjana (X) i desviació estàndard (ds). Així mateix, s'hi han incorporat els valors de l'índex de rugositat i els paràmetres bioquímics. L'estudi quantitatiu inclou 16 taules, una per a cada animal. A una taula apart (pg. 78), hi consten les mitjanes dels paràmetres per cadascun dels quatre grups en que hem dividit el conjunt d'animals inclosos en l'estudi.

Cas número:	608-9R																									X	M	m	ds
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12																	
cèl·lules	1	1	6	4	6	5	8	4	6	3	4	10	6													5,25	10,00	1,00	2,34
	1b	4	4	5	3	6	6	3	2	4	4	6	3													4,17	6,00	2,00	1,34
clusters	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0													0,00	0,00	0,00	0,00
	2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0													0,00	0,00	0,00	0,00
matriu	3	99	94	96	94	95	92	96	94	97	96	90	94													94,75	99,00	90,00	2,34
	3b	94	96	95	97	94	94	97	98	96	96	94	97													95,67	98,00	94,00	1,44
vasos	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0													0,00	0,00	0,00	0,00
	4b	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0													0,17	2,00	0,00	0,58
necrosi	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0													0,00	0,00	0,00	0,00
	5b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0													0,00	0,00	0,00	0,00
fibrocartílag	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0													0,00	0,00	0,00	0,00
	6b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0													0,00	0,00	0,00	0,00
fissures	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0													0,00	0,00	0,00	0,00
	7b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0													0,00	0,00	0,00	0,00
índex de rugositat		835	681	769	630	607	850																			728,67			
Contingut d'aigua (%)																										74,78			
Hex/PT (nmol/mg)																										94,88			
GlcN/HexN(nmol/nmol)																										33,52			
GaIN/HexN(nmol/nmol)																										66,48			
QS/PT (pmol/mg)																										1,72			
DS (%)																										21,63			



Cas número:	608-4R												X	M	m	ds							
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12											
cèl·lules	1	5	4	3	3	2	4	4	1	6	3	3	4							3,50	6,00	1,00	1,31
	1b	3	4	4	5	3	3	3	3	3	1	4	4							3,33	5,00	1,00	0,98
clusters	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0							0,00	0,00	0,00	0,00
	2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0							0,00	0,00	0,00	0,00
matriu	3	95	96	97	97	98	96	96	99	94	97	97	96							96,50	99,00	94,00	1,31
	3b	97	96	96	95	97	97	97	97	97	99	96	96							96,67	99,00	95,00	0,98
vasos	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0							0,00	0,00	0,00	0,00
	4b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0							0,00	0,00	0,00	0,00
necrosi	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0							0,00	0,00	0,00	0,00
	5b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0							0,00	0,00	0,00	0,00
fibrocartílag	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0							0,00	0,00	0,00	0,00
	6b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0							0,00	0,00	0,00	0,00
fissures	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0							0,00	0,00	0,00	0,00
	7b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0							0,00	0,00	0,00	0,00
índex de rugositat		573	606	663	676	753	681													658,67			
Contingut d'aigua (%)																				85,52			
Hex/PT (nmol/mg)																				221,74			
GlcN/HexN(nmol/nmol)																				54,03			
GalN/HexN(nmol/nmol)																				45,97			
QS/PT (pmol/mg)																				8,71			
DS (%)																				28,68			



Cas número:	<b>606-9R</b>												X	M	m	ds								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11													
cèl·lules	1	7	3	2	8	9	4	6	6	7	5	4									5,55	9,00	2,00	2,16
	1b	8	7	3	10	5	5	6	3	5	2	2									5,09	10,00	2,00	2,55
clusters	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									0,00	0,00	0,00	0,00
	2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									0,00	0,00	0,00	0,00
matriu	3	93	97	98	92	91	96	94	94	93	95	96									94,45	98,00	91,00	2,16
	3b	92	93	97	90	94	95	94	96	94	98	97									94,55	98,00	90,00	2,38
vasos	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									0,00	0,00	0,00	0,00
	4b	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1									0,36	1,00	0,00	0,50
necrosi	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									0,00	0,00	0,00	0,00
	5b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									0,00	0,00	0,00	0,00
fibrocartílag	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									0,00	0,00	0,00	0,00
	6b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									0,00	0,00	0,00	0,00
fissures	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									0,00	0,00	0,00	0,00
	7b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									0,00	0,00	0,00	0,00
índex de rugositat		549	910	736	1192	918															861,00			
Contingut d'aigua (%)																					80,44			
Hex/PT (nmol/mg)																					64,50			
GlcN/HexN(nmol/nmol)																					44,80			
GaN/HexN(nmol/nmol)																					55,20			
QS/PT (pmol/mg)																					1,41			
DS (%)																					12,08			

Cas número:	595-9L																						X	M	m	ds
	1	2	3	4	5	6	7	8	9																	
cèl·lules	1	7	5	7	13	6	7	10	5	8												7,56	13,00	5,00	2,55	
	1b	5	3	14	11	6	5	7	5	8												7,11	14,00	3,00	3,44	
clusters	2	0	5	1	0	0	1	0	0	0												0,78	5,00	0,00	1,64	
	2b	4	3	0	0	2	0	0	0	0												1,00	4,00	0,00	1,58	
matriu	3	93	90	92	84	93	92	87	95	92												90,89	95,00	84,00	3,41	
	3b	91	88	85	89	91	95	90	95	92												90,67	95,00	85,00	3,20	
vasos	4	0	0	0	0	1	0	3	0	0												0,44	3,00	0,00	1,01	
	4b	0	6	1	0	1	0	3	0	0												1,22	6,00	0,00	2,05	
necrosi	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0												0,00	0,00	0,00	0,00	
	5b	0	0	0	0	0	0	0	0	0												0,00	0,00	0,00	0,00	
fibrocartílag	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0												0,00	0,00	0,00	0,00	
	6b	0	0	0	0	0	0	0	0	0												0,00	0,00	0,00	0,00	
fissures	7	0	0	0	3	0	0	0	0	0												0,33	3,00	0,00	1,00	
	7b	0	0	0	0	0	0	0	0	0												0,00	0,00	0,00	0,00	
índex de rugositat		693	658																			675,50				
Contingut d'aigua (%)																										
Hex/PT (nmol/mg)																										
GlcN/HexN(nmol/nmol)																										
GalN/HexN(nmol/nmol)																										
QS/PT (pmol/mg)																										
DS (%)																										



Cas número:	<b>526-9L</b>																																X	M	m	ds														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12																																					
cèl·lules	1	4	4	4	5	1	1	2	1	5	8	3	4																						3,50	8,00	1,00	2,07												
	1b	7	4	4	8	2	6	4	6	4	4	6	5																							5,00	8,00	2,00	1,65											
clusters	2	0	6	5	1	5	4	0	2	1	0	3	0																								2,25	6,00	0,00	2,26										
	2b	0	3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0																									0,33	3,00	0,00	0,89									
matriu	3	96	90	88	94	94	85	91	97	90	91	94	96																									92,17	97,00	85,00	3,61									
	3b	93	93	96	92	97	94	96	94	96	93	94	95																											94,42	97,00	92,00	1,56							
vasos	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0																											0,00	0,00	0,00	0,00							
	4b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0																												0,00	0,00	0,00	0,00						
necrosi	5	0	0	0	0	0	6	5	0	4	0	0	0																												1,25	6,00	0,00	2,30						
	5b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0																													0,08	1,00	0,00	0,29					
fibrocartílag	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0																													0,00	0,00	0,00	0,00					
	6b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0																														0,00	0,00	0,00	0,00				
fissures	7	0	0	3	0	0	4	2	0	0	1	0	0																														0,83	4,00	0,00	1,40				
	7b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0																														0,17	2,00	0,00	0,58				
índex de rugositat		596	911	652	828	791																																						755,60						
Contingut d'aigua (%)																																																		
Hex/PT (nmol/mg)																																																		
GlcN/HexN(nmol/nmol)																																																		
GalN/HexN(nmol/nmol)																																																		
QS/PT (pmol/mg)																																																		
DS (%)																																																		

Cas número:	<b>554-9L</b>																			X	M	m	ds	
cèl·lules	1	7	10	7	6	5	7	4	5	6	4	4									5,91	10,00	4,00	1,81
	1b	6	5	6	4	6	7	10	5	1	3	2									5,00	10,00	1,00	2,49
clusters	2	0	0	1	0	3	1	2	3	1	0	0									1,00	3,00	0,00	1,18
	2b	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1									0,18	1,00	0,00	0,40
matriu	3	93	90	92	94	92	92	94	89	93	96	96									92,82	96,00	89,00	2,18
	3b	94	95	94	96	92	91	90	95	98	97	97									94,45	98,00	90,00	2,58
vasos	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									0,00	0,00	0,00	0,00
	4b	0	0	0	0	1	2	0	0	1	0	0									0,36	2,00	0,00	0,67
necrosi	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									0,00	0,00	0,00	0,00
	5b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									0,00	0,00	0,00	0,00
fibrocartílag	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									0,00	0,00	0,00	0,00
	6b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									0,00	0,00	0,00	0,00
fissures	7	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0									0,27	3,00	0,00	0,90
	7b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									0,00	0,00	0,00	0,00
índex de rugositat		622	627	703	628	930															702,00			
Contingut d'aigua (%)																								
Hex/PT (nmol/mg)																								
GlcN/HexN(nmol/nmol)																								
GalN/HexN(nmol/nmol)																								
QS/PT (pmol/mg)																								
DS (%)																								

Cas número:	<b>487-9L</b>																						X	M	m	ds																																					
cèl·lules	1	9	14	14	12	4	6	6	8																				9,13	14,00	4,00	3,83																															
	1b	6	7	0	6	2	4	2	7																							4,25	7,00	0,00	2,66																												
clusters	2	0	1	0	0	0	0	0	0																									0,13	1,00	0,00	0,35																										
	2b	1	0	0	0	0	0	0	0																										0,13	1,00	0,00	0,35																									
matriu	3	88	73	77	79	94	93	93	87																												85,50	94,00	73,00	8,14																							
	3b	89	72	0	70	90	86	85	82																													71,75	90,00	0,00	29,92																						
vasos	4	3	2	9	4	2	1	1	5																														3,38	9,00	1,00	2,67																					
	4b	4	21	0	24	8	10	13	11																																11,38	24,00	0,00	8,03																			
necrosi	5	0	10	0	5	0	0	0	0																																1,88	10,00	0,00	3,72																			
	5b	0	0	0	0	0	0	0	0																																	0,00	0,00	0,00	0,00																		
fibrocartílag	6	0	0	0	0	0	0	0	0																																	0,00	0,00	0,00	0,00																		
	6b	0	0	0	0	0	0	0	0																																		0,00	0,00	0,00	0,00																	
fissures	7	0	0	0	0	0	0	0	0																																			0,00	0,00	0,00	0,00																
	7b	0	0	0	0	0	0	0	0																																		0,00	0,00	0,00	0,00																	
índex de rugositat		939																																												939,00																	
Contingut d'aigua (%)																																																85,42															
Hex/PT (nmol/mg)																																																		85,68													
GlcN/HexN(nmol/nmol)																																																			33,07												
GalN/HexN(nmol/nmol)																																																				66,93											
QS/PT (pmol/mg)																																																			0,33												
DS (%)																																																												56,90			



Cas número:	<b>611-9L</b>																														X	M	m	ds																					
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12																																										
cèl·lules	1	10	11	11	8	8	4	4	7	7	8	4	6																								7,33	11,00	4,00	2,53															
	1b	8	6	6	6	11	3	4	3	2	2	5	4																									5,00	11,00	2,00	2,63														
clusters	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1																										0,17	1,00	0,00	0,39													
	2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1																											0,08	1,00	0,00	0,29												
matriu	3	84	83	89	92	92	82	72	55	43	89	33	46																												71,67	92,00	33,00	21,47											
	3b	84	89	91	80	86	86	72	85	64	98	93	94																														85,17	98,00	64,00	9,55									
vasos	4	6	6	0	0	0	2	5	0	0	3	0	0																															1,83	6,00	0,00	2,52								
	4b	8	5	3	14	3	11	24	12	34	0	2	1																																9,75	34,00	0,00	10,29							
necrosi	5	0	0	0	0	0	12	19	37	50	0	63	47																																	19,00	63,00	0,00	23,78						
	5b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0																																	0,00	0,00	0,00	0,00						
fibrocartílag	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0																																	0,00	0,00	0,00	0,00						
	6b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0																																		0,00	0,00	0,00	0,00					
fissures	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0																																			0,00	0,00	0,00	0,00				
	7b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0																																			0,00	0,00	0,00	0,00				
índex de rugositat		662	583	601	1190																																											759,00							
Contingut d'aigua (%)																																																	75,53						
Hex/PT (nmol/mg)																																																		64,40					
GlcN/HexN(nmol/nmol)																																																			43,47				
GalN/HexN(nmol/nmol)																																																			56,53				
QS/PT (pmol/mg)																																																			1,48				
DS (%)																																																				53,46			



Cas número:	<b>606-9L</b>																										X	M	m	ds	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14																
cèl·lules	1	9	12	10	12	12	3	3	5	5	16	11	5	11	8												8,71	16,00	3,00	3,97	
	1b	8	12	9	8	10	10	7	14	3	4	1	4	14	4												7,71	14,00	1,00	4,10	
clusters	2	0	0	1	0	0	4	7	12	0	0	0	0	0	0												1,71	12,00	0,00	3,60	
	2b	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0												0,21	2,00	0,00	0,58	
matriu	3	89	88	89	88	88	93	90	83	70	11	0	0	0	0												56,36	93,00	0,00	42,31	
	3b	91	88	88	91	89	89	91	82	75	66	52	77	0	48													73,36	91,00	0,00	25,54
vasos	4	0	0	0	0	0	0	0	0	4	7	2	2	0	0												1,07	7,00	0,00	2,09	
	4b	1	0	3	1	1	1	1	2	22	30	47	19	0	11													9,93	47,00	0,00	14,45
necrosi	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0												0,00	0,00	0,00	0,00	
	5b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0												0,00	0,00	0,00	0,00	
fibrocartílag	6	0	0	0	0	0	0	0	0	21	66	87	93	89	91													31,93	93,00	0,00	42,01
	6b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	86	37													8,79	86,00	0,00	24,31
fissures	7	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1													0,21	2,00	0,00	0,58
	7b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0													0,00	0,00	0,00	0,00
índex de rugositat		701	806	766																								757,67			
Contingut d'aigua (%)																												80,21			
Hex/PT (nmol/mg)																												97,26			
GlcN/HexN(nmol/nmol)																												36,06			
GalN/HexN(nmol/nmol)																												63,94			
QS/PT (pmol/mg)																												1,20			
DS (%)																												88,36			

Cas número:	<b>354C</b>											X	M	m	ds								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10													
cèl·lules	1	5	1	4	6	4	3	5	3	5	3									3,90	6,00	1,00	1,45
	1b	4	2	5	7	2	4	5	6	4	7									4,60	7,00	2,00	1,78
clusters	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									0,00	0,00	0,00	0,00
	2b	0	2	0	0	0	0	0	0	1	0									0,30	2,00	0,00	0,67
matriu	3	95	99	95	94	96	97	95	97	95	97									96,00	99,00	94,00	1,49
	3b	95	96	92	91	98	96	93	94	95	93									94,30	98,00	91,00	2,11
vasos	4	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0									0,10	1,00	0,00	0,32
	4b	1	0	3	2	0	0	2	0	0	0									0,80	3,00	0,00	1,14
necrosi	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									0,00	0,00	0,00	0,00
	5b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									0,00	0,00	0,00	0,00
fibrocartílag	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									0,00	0,00	0,00	0,00
	6b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									0,00	0,00	0,00	0,00
fissures	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									0,00	0,00	0,00	0,00
	7b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									0,00	0,00	0,00	0,00
índex de rugositat		630	663	818	531	628	624													649,00			
Contingut d'aigua (%)																							
Hex/PT (nmol/mg)																							
GlcN/HexN(nmol/nmol)																							
GalN/HexN(nmol/nmol)																							
QS/PT (pmol/mg)																							
DS (%)																							



Cas número:	<b>522C</b>																								X	M	m	ds		
cèl·lules	1	4	7	5	5	6	3	6	6	5	7															5,40	7,00	3,00	1,26	
	1b	3	6	4	6	4	7	7		6	6															5,44	7,00	3,00	1,42	
clusters	2	1	1	4	4	1	1	3	0	0	1															1,60	4,00	0,00	1,51	
	2b	1	2	1	2	1	1	1		1	0															1,11	2,00	0,00	0,60	
matriu	3	95	92	91	90	93	96	91	94	95	92															92,90	96,00	90,00	2,02	
	3b	95	89	93	92	95	92	92		93	94															92,78	95,00	89,00	1,86	
vasos	4	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0															0,10	1,00	0,00	0,32	
	4b	1	3	2	0	0	0	0		0	0															0,67	3,00	0,00	1,12	
necrosi	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0															0,00	0,00	0,00	0,00	
	5b	0	0	0	0	0	0	0		0	0															0,00	0,00	0,00	0,00	
fibrocartílag	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0															0,00	0,00	0,00	0,00	
	6b	0	0	0	0	0	0	0		0	0															0,00	0,00	0,00	0,00	
fissures	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0															0,00	0,00	0,00	0,00	
	7b	0	0	0	0	0	0	0		0	0															0,00	0,00	0,00	0,00	
índex de rugositat		569	545	559	584	558	544	587																		563,71				
Contingut d'aigua (%)																														
Hex/PT (nmol/mg)																														
GlcN/HexN(nmol/nmol)																														
GalN/HexN(nmol/nmol)																														
QS/PT (pmol/mg)																														
DS (%)																														

Cas número:	<b>540C</b>																								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	X	M	m	ds
cèl·lules	1	4	9	5	4	5	5	2	5	5	5	3	3	5	5	3	8	2	2	3	0	4,15	9,00	0,00	2,06
	1b	3	3	3	5	7	8	9	9	3	3	6	4	4	4	5	6	5	5	7	3	5,10	9,00	3,00	2,02
clusters	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	8	8	9	1,60	9,00	0,00	3,20
	2b	0	2	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0,45	3,00	0,00	0,83
matriu	3	95	91	94	96	95	95	98	95	95	95	97	97	95	95	97	92	92	90	89	91	94,20	98,00	89,00	2,53
	3b	94	94	93	94	92	92	91	91	97	97	94	96	96	96	95	94	95	95	92	96	94,20	97,00	91,00	1,88
vasos	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,05	1,00	0,00	0,22
	4b	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,25	3,00	0,00	0,72
necrosi	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00
	5b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00
fibrocartílag	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00
	6b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00
fissures	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00
	7b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00
índex de rugositat		742	916	803	806	747	714	754	615	639	763	848										758,82			
Contingut d'aigua (%)																									
Hex/PT (nmol/mg)																									
GlcN/HexN(nmol/nmol)																									
GalN/HexN(nmol/nmol)																									
QS/PT (pmol/mg)																									
DS (%)																									

Cas número:	<b>377-4L</b>																														X	M	m	ds												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11																																		
cèl·lules	1	2	2	2	1	0	2	3	3	3	1	1																						1,82	3,00	0,00	0,98									
	1b	4	4	2	3	4	4	2	4	2	2	4																							3,18	4,00	2,00	0,98								
clusters	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0																								0,00	0,00	0,00	0,00							
	2b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0																									0,00	0,00	0,00	0,00						
matriu	3	98	98	98	99	100	98	97	97	94	99	99																									97,91	100,00	94,00	1,58						
	3b	96	96	98	97	96	96	98	96	98	98	96																										96,82	98,00	96,00	0,98					
vasos	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0																										0,00	0,00	0,00	0,00					
	4b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0																											0,00	0,00	0,00	0,00				
necrosi	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0																											0,00	0,00	0,00	0,00				
	5b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0																											0,00	0,00	0,00	0,00				
fibrocartílag	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0																											0,00	0,00	0,00	0,00				
	6b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0																												0,00	0,00	0,00	0,00			
fissures	7	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0																											0,27	3,00	0,00	0,90				
	7b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0																												0,00	0,00	0,00	0,00			
índex de rugositat		658	633																																				645,50							
Contingut d'aigua (%)																																														
Hex/PT (nmol/mg)																																														
GlcN/HexN(nmol/nmol)																																														
GalN/HexN(nmol/nmol)																																														
QS/PT (pmol/mg)																																														
DS (%)																																														

## Quadre resum dels resultats

		Control	28 setmanes	48 setmanes	104 setmanes	208 setmanes
cèl·lules	1	4,11	6,52	5,43	4,48	1,82
	1b	4,45	5,34	5,89	5,05	3,18
clusters	2	0,00	1,04	2,34	1,07	0,00
	2b	0,00	0,41	0,26	0,62	0,00
matriu	3	95,89	90,34	76,74	94,37	97,91
	3b	95,44	87,82	86,59	93,76	96,82
vasos	4	0,00	0,95	0,73	0,08	0,00
	4b	0,11	3,24	5,08	0,57	0,00
necrosi	5	0,00	0,78	5,84	0,00	0,00
	5b	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00
fibrocartílag	6	0,00	0,00	7,98	0,00	0,00
	6b	0,00	0,00	2,20	0,00	0,00
fissures	7	0,00	0,36	0,94	0,00	0,27
	7b	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00
Cel·lularitat total superf.		4,11	7,56	7,77	5,55	1,82
Cel·lularitat total prof.		4,45	5,75	6,14	5,67	3,18
índex de rugositat		698,22	768,03	726,33	657,18	645,50
Contingut d'aigua (%)		81,12	85,42	83,36		
Hex/PT (nmol/mg)		124,93	85,68	103,28		
GlcN/HexN(nmol/nmol)		48,08	33,07	38,15		
GalN/HexN(nmol/nmol)		51,92	66,93	61,86		
QS/PT (pmol/mg)		3,90	0,33	2,18		
DS (%)		23,78	56,90	48,96		

## ESTUDI ESTADÍSTIC

### 1. Mesures histològiques

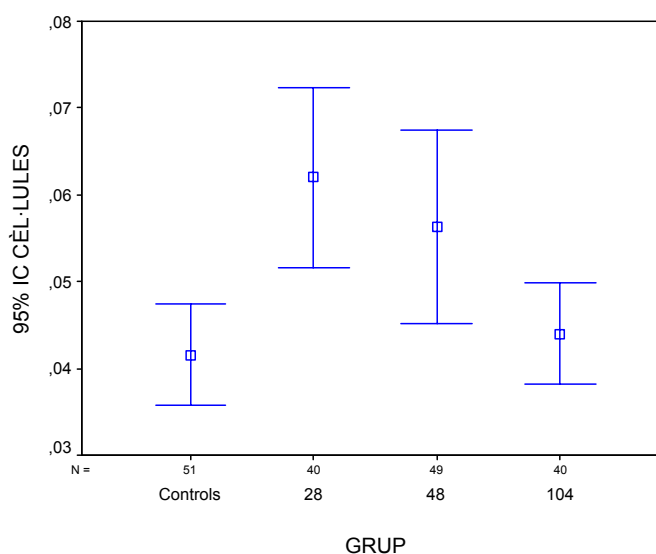
La variable resposta en totes les anàlisis d'aquest apartat és la presència o no d'un paràmetre o element hístic en la mostra histològica.

#### 1- CÈL·LULES.

*Superficial:* A continuació presentem la taula amb els *odds ratio* i els seus intervals de confiança.:

		<b>Odds Ratio (IC95%)</b>
TEMPS/TRACTAMENT	0 (Control)	1 (Basal)
	28	1.59 (0.90-2.82)
	48	1.25 (0.70-2.21)
	104	1.11 (0.60-2.08)

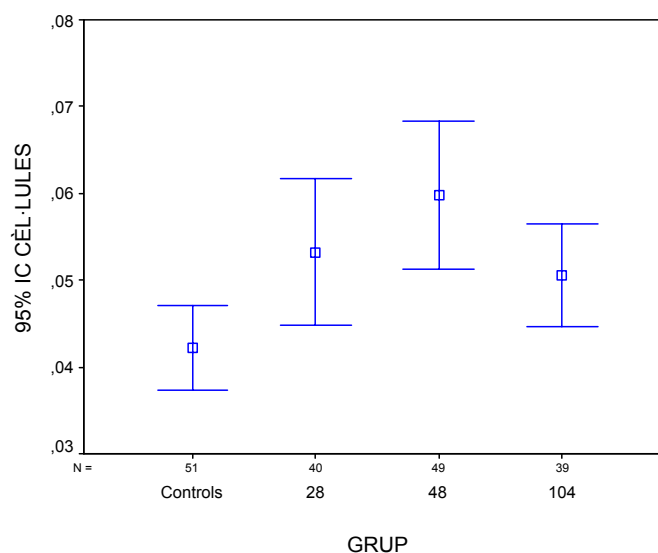
Interpretació: En aquest cas no hi ha significació estadística en l'associació de cap dels grups amb la presència de cèl·lules. Això ho veiem en el fet de que tots els intervals de confiança dels *odds ratio* inclouen l'1.



*Profunda:* Els resultats en aquest cas són els següents:

		<b>Odds Ratio (IC95%)</b>
TEMPS/TRACTAMENT	0 (Control)	1 (Basal)
	28	1.26 (0.95-1.68)
	48	<b>1.40 (1.07-1.85)</b>
	104	1.19 (0.88-1.61)

Interpretació: Hi ha una associació positiva entre els individus de les 48 setmanes i la presència de cèl·lules respecte als controls. És a dir, que els individus de les 48 setmanes tenen 1.40 cops més risc de tenir cèl·lules que els controls. No es detecten diferències significatives en la resta de grups.



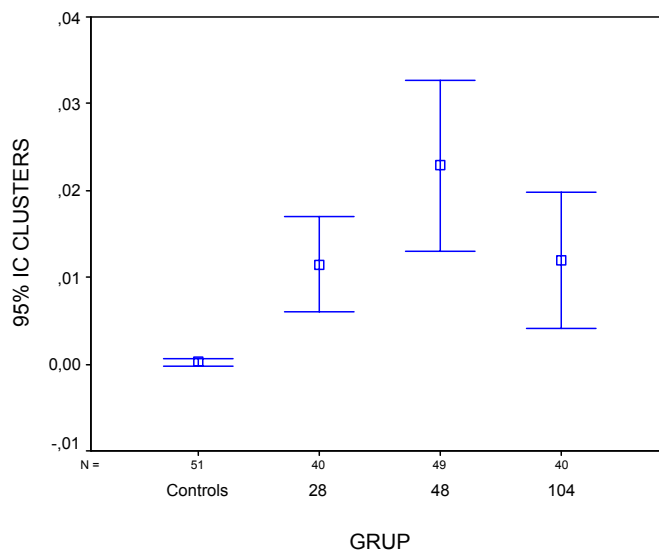
## 2- CLUSTERS.

*Superficials:* Els resultats en aquest cas són els següents:

		<b>Odds Ratio (IC95%)</b>
TEMPS/TRACTAMENT	0 (Control)	1 (Basal)
	28	<b>50.3 (1.17-2161.6)</b>
	48	<b>101.9 (2.44-4261.2)</b>
	104	<b>50.6 (1.14-2233.8)</b>

Interpretació: En aquest cas també podem dir que hi ha una associació positiva entre la presència de clusters i el fet de ser tractat comparat amb els no tractats (controls). No obstant això, aquí sembla que hi ha un problema ja que si ens fixem en els intervals de confiança de l'*odds ratio* veiem que aquests són molt grans, el que implica que, tot i que sembla que hi ha significació estadística, l'estimació del *odds ratio* no és massa fiable (la desviació estàndard de l'estimació és molt elevada). Això és degut a que en el grup control no hi ha cap mesura de cap individu en el qual s'observés algun cluster. És a dir que en el grup control la probabilitat de tenir cluster és de zero segons l'estimació que faríem amb la mostra que tenim. Aquest fet fa que els mètodes estadístics tinguin seriosos problemes. I per això, en aquest cas, no és prudent interpretar l'*odds ratio* sinó que el que podem dir és que hi ha indicis de significació estadística.

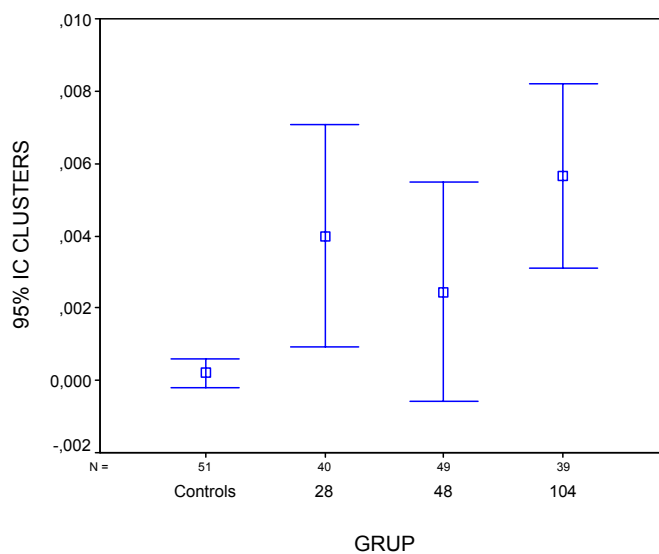
## Resultats



*Profunds:* Els resultats obtinguts són els següents:

		<b>Odds Ratio (IC95%)</b>
TEMPS/TRACTAMENT	0 (Control)	1 (Basal)
	28	20.3 (0.93-444.40)
	48	12.4 (0.55-279.1)
	104	<b>29.6 (1.37-640.4)</b>

Interpretació: En aquest cas només hi ha associació entre els tractats de les 104 setmanes i la presència de clusters. Els altres dos grups de tractats no s'associen a la presència de clusters. Valguin aquí els comentaris fets en l'apartat anterior (superficial).

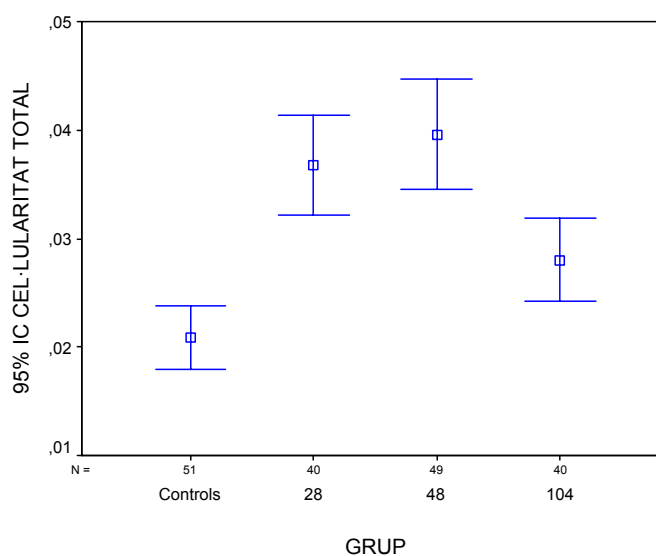


## 3- CEL·LULARITAT TOTAL

*Superficial:* La taula de resultats és la següent:

		<b>Odds Ratio</b> <b>(IC95%)</b>
TEMPS/TRACTAMENT	0 (Control)	1 (Basal)
	28	<b>1.89 (1.31-2.73)</b>
	48	<b>1.96 (1.37-2.82)</b>
	104	1.37 (0.92-2.04)

Interpretació: L'augment de cel·lularitat està associada al tractament, tant mesurat a les 48 setmanes com a les 28. Sembla que el tractament causa un efecte en la cel·lularitat dels individus fins les 48 setmanes però més enllà no hi ha evidències de que continuï existint aquesta associació.

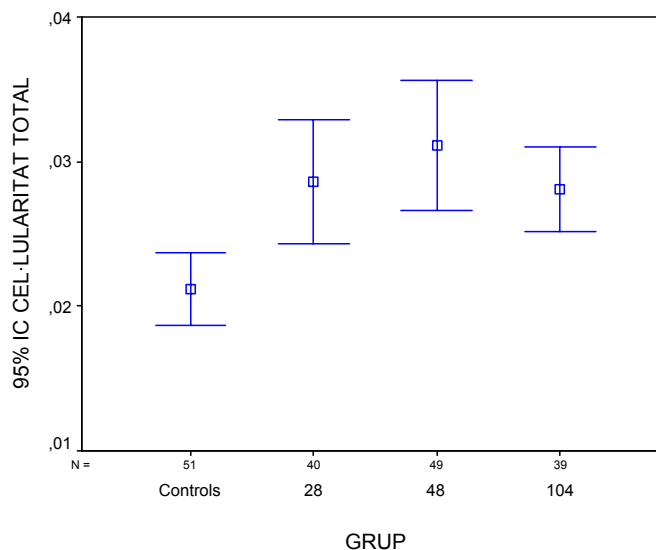


*Profund:* Resultats:

		<b>Odds Ratio</b> <b>(IC95%)</b>
TEMPS/TRACTAMENT	0 (Control)	1 (Basal)
	28	1.35 (0.99-1.82)
	48	<b>1.46 (1.03-1.95)</b>
	104	1.33 (0.96-1.83)

Interpretació: A nivell profund canvien els resultats i ens trobem que només el grup de les 48 setmanes està més associat que els controls a tenir un augment de la cel·lularitat profunda.



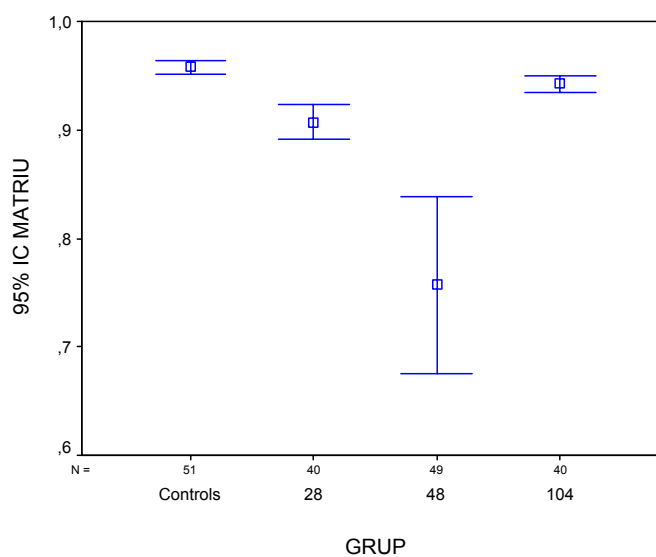


#### 4- MATRIU

*Superficial:* La taula de resultats és la següent:

		<b>Odds Ratio</b> <b>(IC95%)</b>
TEMPS/TRACTAMENT	0 (Control)	1 (Basal)
	28	0.42 (0.17-1.02)
	48	<b>0.16 (0.07-0.37)</b>
	104	0.72 (0.27-1.92)

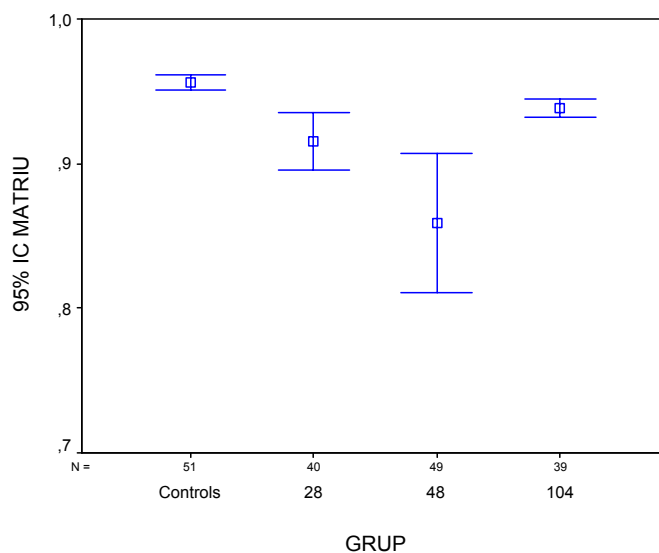
Interpretació: En la variable anomenada matriu trobem que el grup de les 48 setmanes està associat negativament amb la presència de matriu. És a dir que en el grup de les 48 setmanes hi ha menys matriu que en el control. Això ho veiem en el fet que el *odds ratio* sigui inferior a 1.



*Profunda*: Els resultats són el següents:

		<b>Odds Ratio (IC95%)</b>
TEMPS/TRACTAMENT	0 (Control)	1 (Basal)
	28	0.50 (0.24-1.06)
	48	<b>0.34 (0.16-0.71)</b>
	104	0.70 (0.31-1.58)

Interpretació: Val la mateixa interpretació de l'apartat anterior.



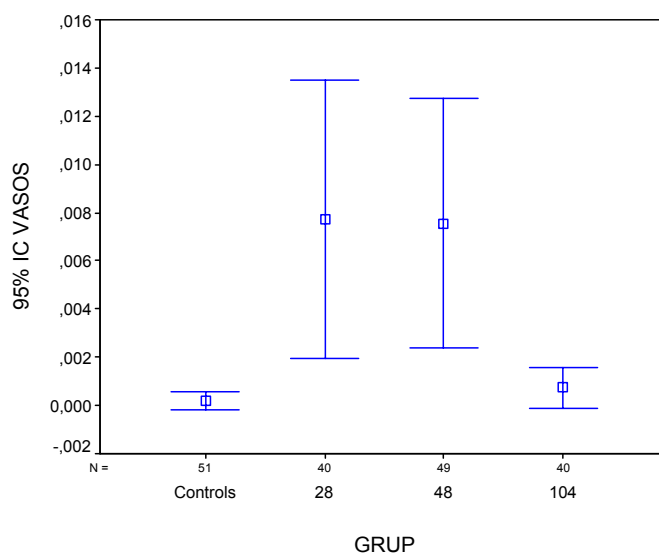
## 5- VASOS

*Superficials*: La taula de resultats és la següent:

		<b>Odds Ratio (IC95%)</b>
TEMPS/TRACTAMENT	0 (Control)	1 (Basal)
	28	15.7 (0.46-534.9)
	48	17.1 (0.51-574.8)
	104	4.53 (0.10-200.1)

Interpretació: En aquest cas no hi ha cap grup que estigui significativament associat a la presència de vasos superficials. Com ja hem dit amb anterioritat, el fet que les estimacions per interval de l'*odds ratio* siguin tan amples ens parla de que les variàncies dels estimadors són molt grans i en conseqüència poc fiables. Això és degut al fet que en el grup de control no s'ha observat cap individu amb vasos superficials.

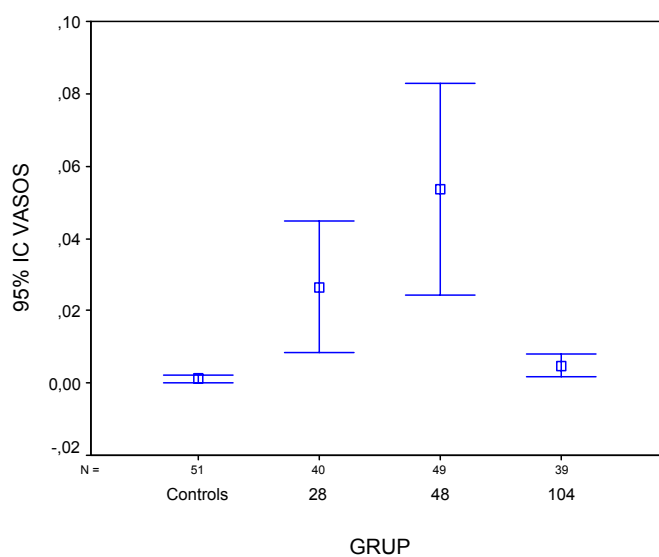
## Resultats



*Profund:* La taula de resultats és la següent:

		<b>Odds Ratio</b> <b>(IC95%)</b>
TEMPS/TRACTAMENT	0 (Control)	1 (Basal)
	28	11.6 (0.72-188.3)
	48	<b>23.5 (1.52-364.3)</b>
	104	4.99 (0.25-97.6)

Interpretació: En aquest cas només el grup de les 48 setmanes mostra diferències significatives respecte els controls. Observem que l'amplada de l'interval és molt gran (veure comentaris fets anteriorment).



6- NECROSI

*Superficial:* En aquest hi ha dos grups en els quals no s'ha observat cap cop la presència de necrosi superficial. En la taula següent es presenten els nombres d'individus que tenen algun valor diferent de zero en les seves observacions:

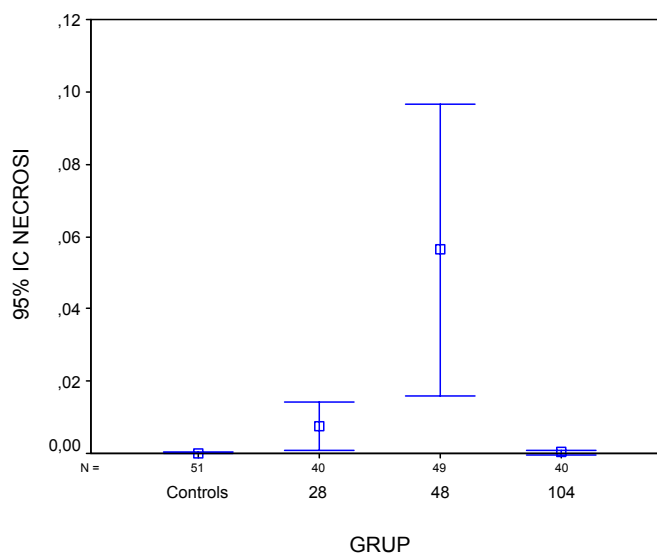
Control 28 48 104  
 N 0 5 13 0

S'ha procedit com hem comentat als mètodes (afegint una observació). Els resultats són els següents:

Control 28 48 104  
 N 1 5 13 1

		<b>Odds Ratio</b> <b>(IC95%)</b>
TEMPS/TRACTAMENT	0 (Control)	1 (Basal)
	28	23.6 (0.14-3910.9)
	48	72.9 (0.47-11360.3)
	104	1.36 (0.002-1019.3)

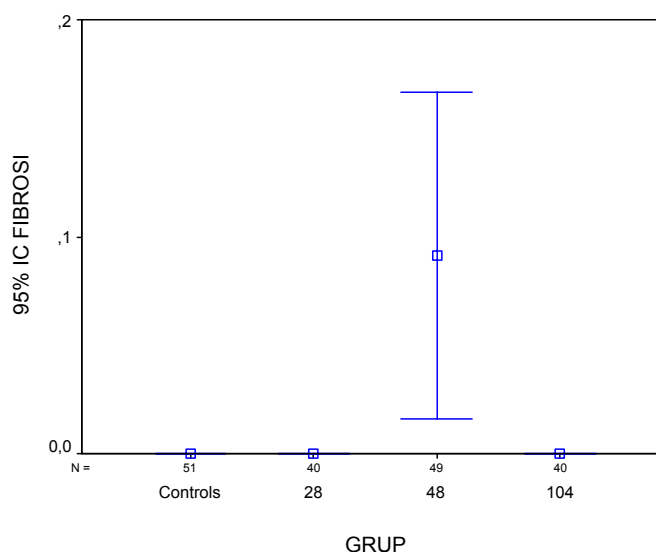
Interpretació: No hi ha cap grup que estigui significativament associat a la presència de necrosi superficial.



*Profunda:* En aquest cas encara és més acusada la presència de mostres amb resultat zero per aquest paràmetre, ja que gairebé tots els grups tenen zeros excepte en el grup de les 28 setmanes que hi ha una mesura d'un individu que té un 1. No podem realitzar cap anàlisi estadística.

### 7- FIBROCARTÍLAG

*Superficial:* En aquest cas tampoc es pot realitzar cap anàlisi estadística perquè només hi ha 6 observacions diferents de zero en un grup (48 setmanes) i en la resta totes les observacions són zeros.



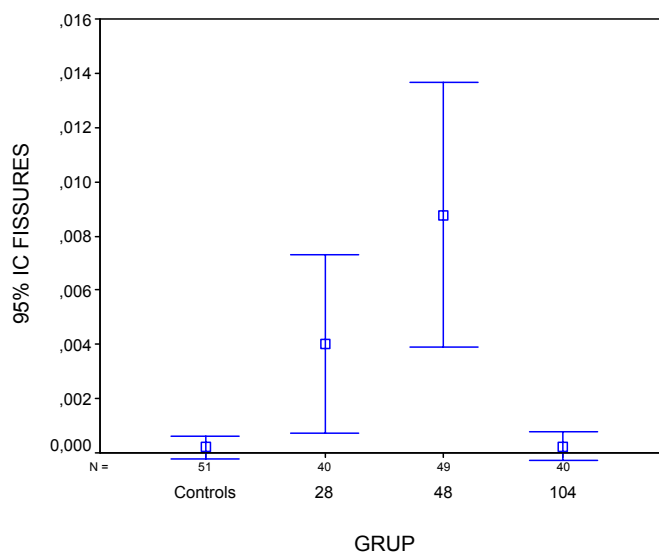
*Profunda:* El mateix que en les superficials però en aquest cas només hi ha 2 observacions diferents de zero en el grup de les 48 setmanes.

### 8- FISSURES

*Superficial:* En aquest, com en el cas de la necrosi, tenim dos grups amb zeros a totes les observacions. Fem el mateix que hem fet a aquell apartat (posem una observació diferent de zero en cada grup que té un zero) i procedim a realitzar l'anàlisi. Els resultats són els següents:

		<b>Odds Ratio</b> <b>(IC95%)</b>
TEMPS/TRACTAMENT	0 (Control)	1 (Basal)
	28	16.8 (0.88-319.9)
	48	<b>30.0 (1.64-548.2)</b>
	104	1.22 (0.03-58.2)

Interpretació: En aquest cas veiem que el grup de les 48 setmanes està associat a la presència de fissures respecte el grup control.

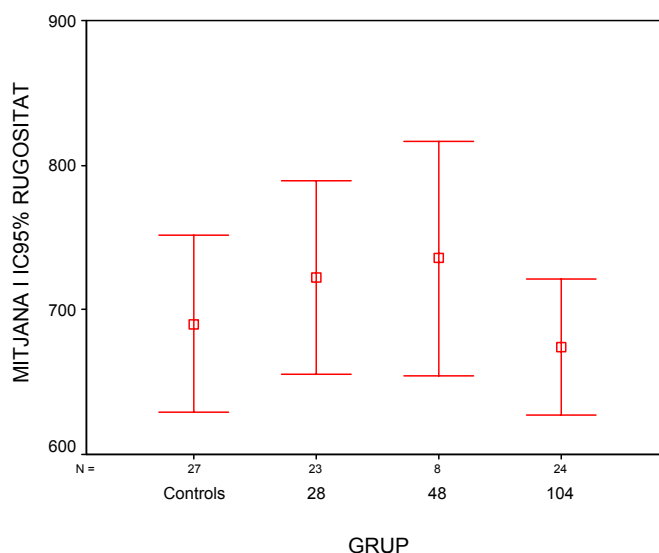


*Profunda:* En aquest cas tampoc és poc realitzar l'anàlisi ja que gairebé totes les observacions són zeros.

## 2. Índex de rugositat

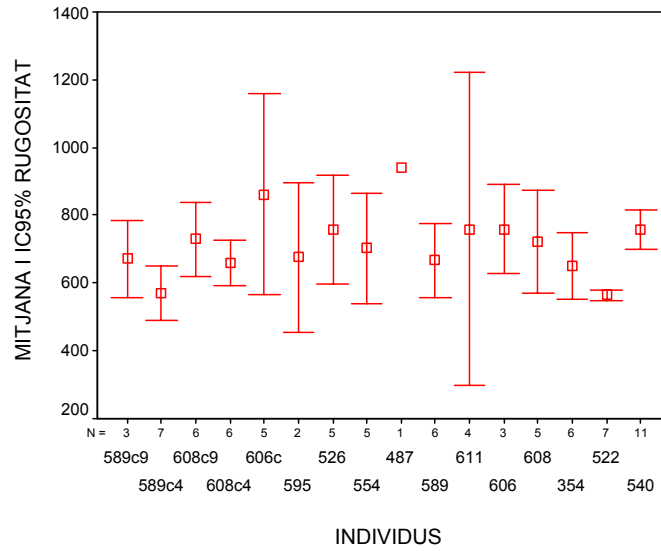
Els resultats no ens mostren diferències significatives en les mitjanes dels grups tractats respecte als controls.

Veiem uns gràfics descriptius per que puguem veure què està passant:



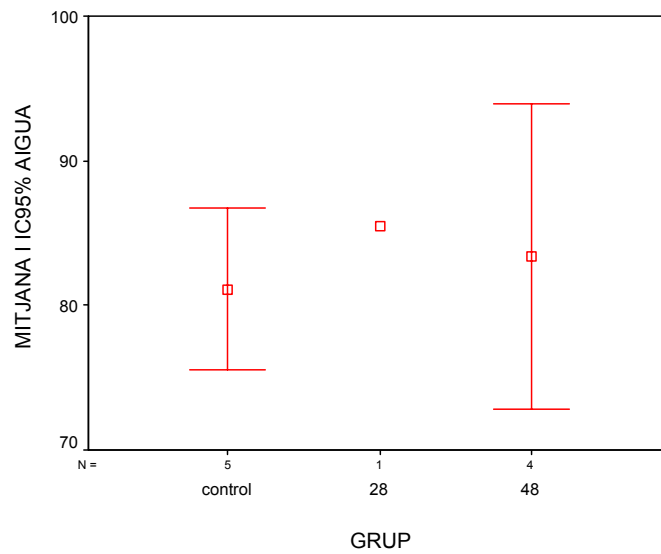
Segons aquest gràfic de mitjanes dels grups ja veiem que no hi ha diferències significatives. I el següent gràfic de les mitjanes per individu tampoc no permet observar diferències entre els grups.

## Resultats

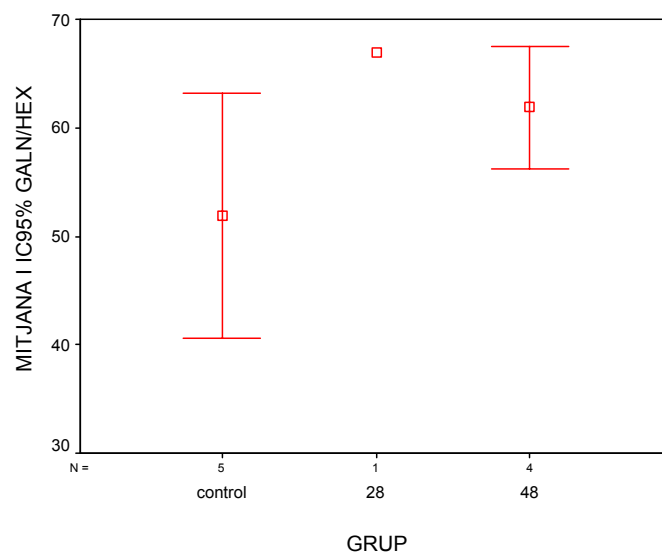
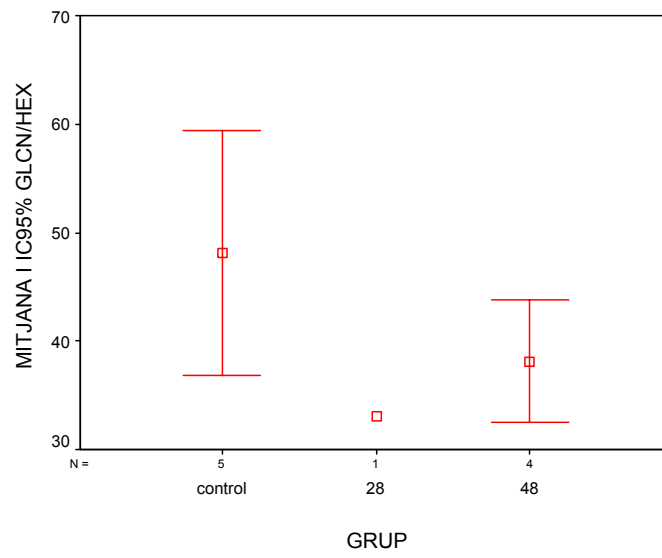
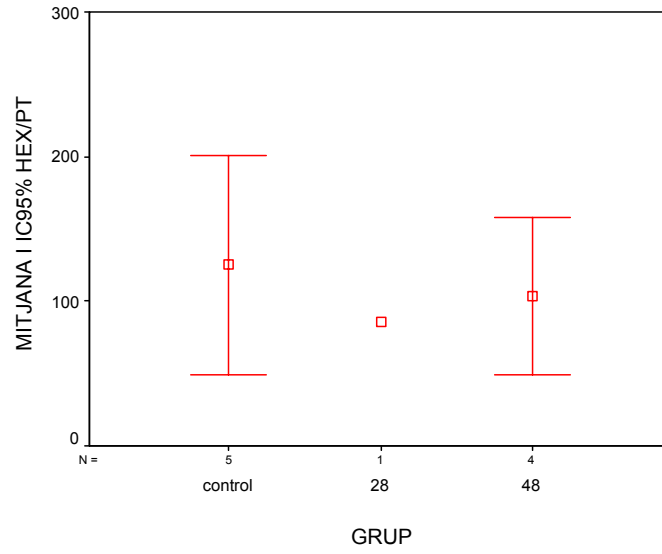


### 3. Mesures bioquímiques

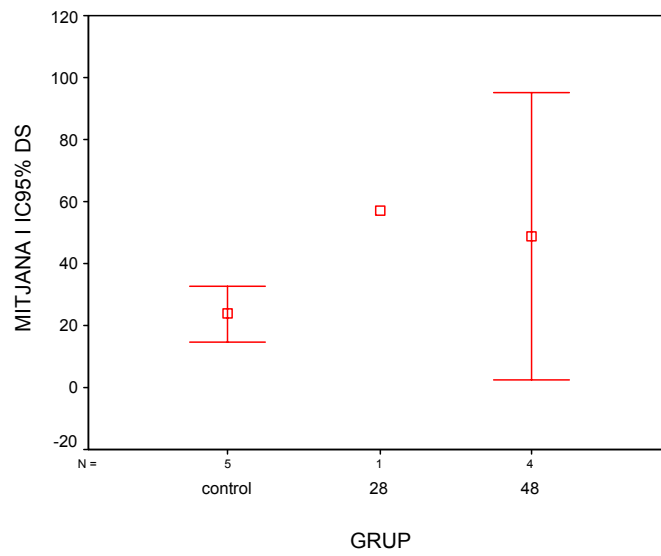
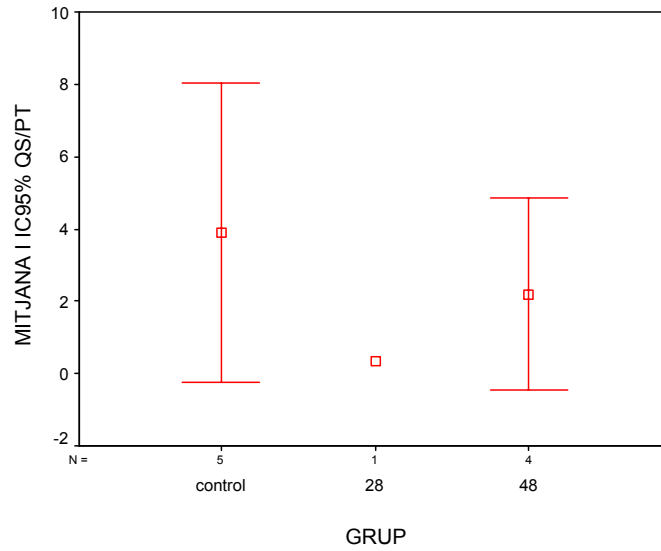
Descriptiva: Primer s'ha considerat per separat el grup de les 48 setmanes i el de les 28 (que només consta d'un individu amb mesures bioquímiques).



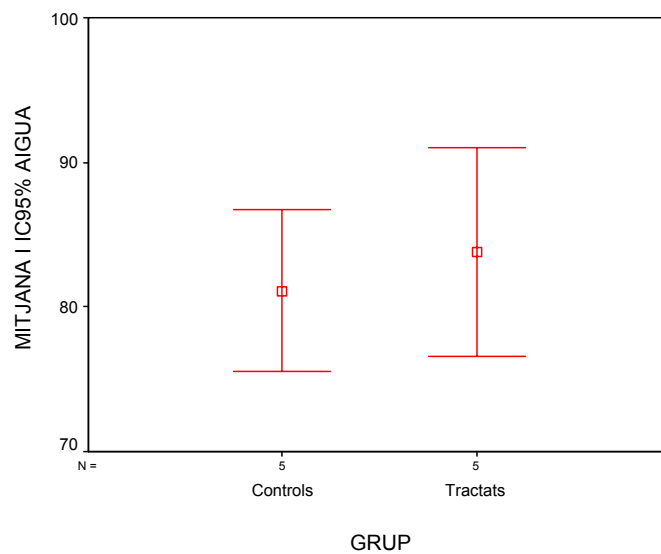
## Resultats



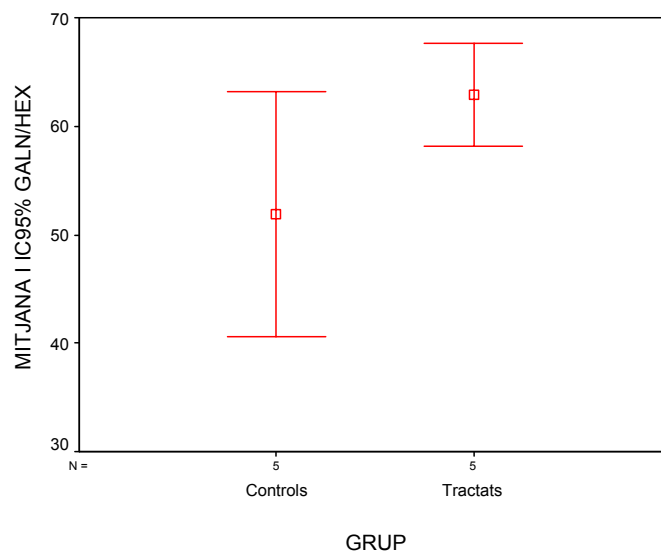
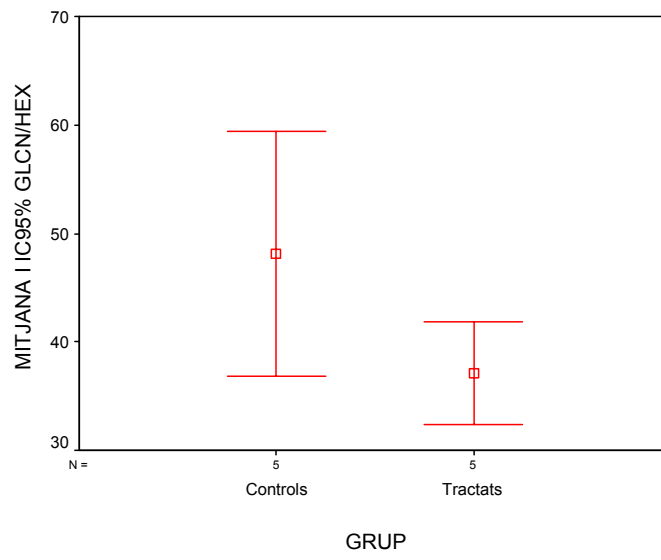
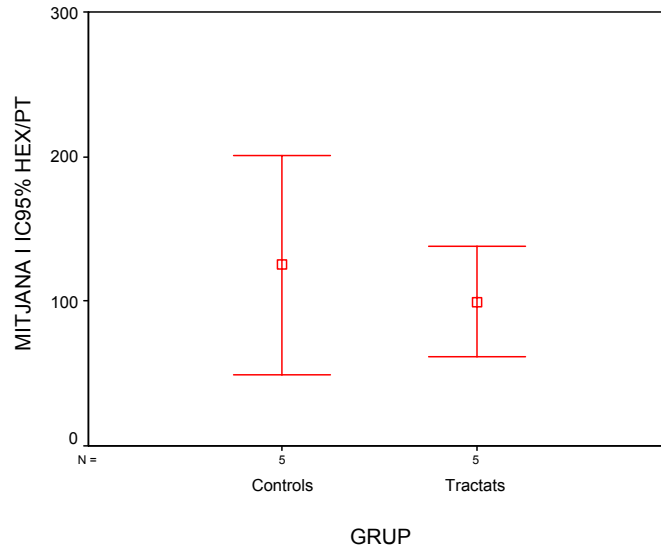


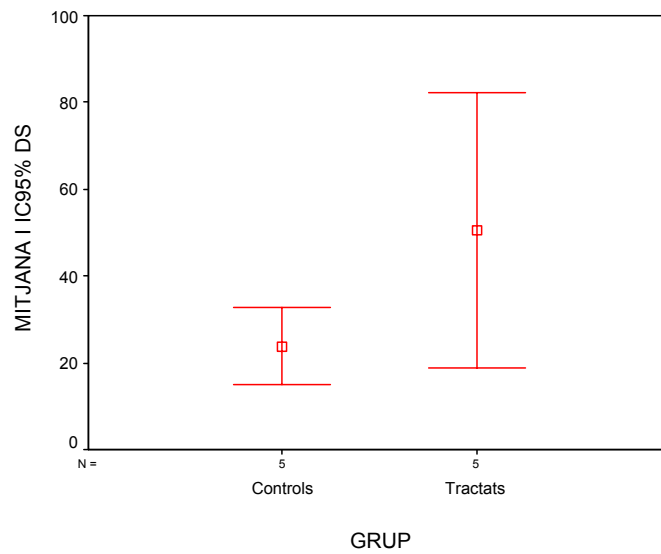
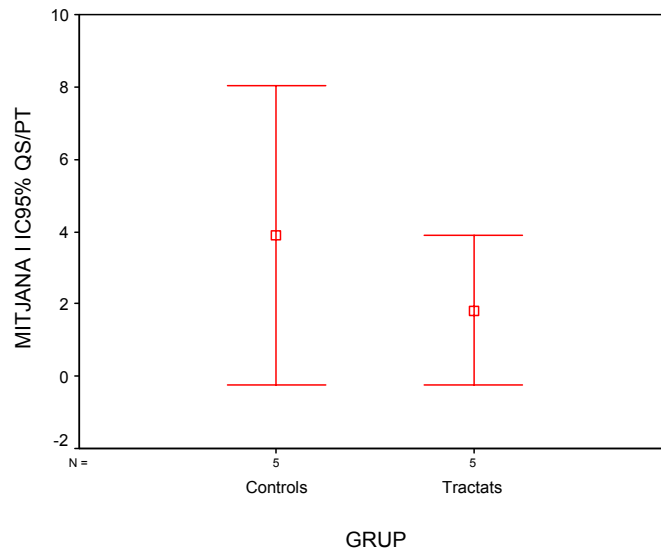


A continuació s'ha considerat el grup de les 28 setmanes junt amb el de les 48 com a un únic grup d'animals amb artrosi respecte al grup control.



# Resultats





Les primeres gràfiques de barres d'error ja ens permeten veure que no es poden treure conclusions amb els valors d'un cas únic del grup de 28 setmanes. Per això, a continuació la taula 7 mostra els valors del grup de les 48 setmanes respecte al de control i a continuació la taula 8 mostra els valors dels grups de 28 i 48 setmanes en conjunt, respecte al grup control.

## PARÀMETRES BIOQUÍMICS

		N	Mitjana	Desviació estàndard	Interval de confiança al 95% per la mitjana	
					Límit inferior	Límit superior
AIGUA	control	5	81,1240	4,5106	75,5233	86,7247
	48	4	83,3625	6,6255	72,8199	93,9051
	Total	9	82,1189	5,2940	78,0496	86,1882
HEX/PT	control	5	124,9260	60,6528	49,6156	200,2364
	48	4	103,2750	34,3415	48,6300	157,9200
	Total	9	115,3033	49,1106	77,5536	153,0530
GLCN/HEX	control	5	48,0760	9,1011	36,7755	59,3765
	48	4	38,1450	3,5797	32,4490	43,8410
	Total	9	43,6622	8,5800	37,0671	50,2574
GALN/HEX	control	5	51,9240	9,1011	40,6235	63,2245
	48	4	61,8550	3,5797	56,1590	67,5510
	Total	9	56,3378	8,5800	49,7426	62,9329
QS/PT	control	5	3,8980	3,3370	-,2454	8,0414
	48	4	2,1825	1,6690	-,4732	4,8382
	Total	9	3,1356	2,7258	1,0403	5,2308
DS	control	5	23,7820	7,2141	14,8245	32,7395
	48	4	48,9550	29,1024	2,6466	95,2634
	Total	9	34,9700	22,7958	17,4476	52,4924

**Taula 7.** Resultats de l'estudi estadístic dels paràmetres bioquímics dels grups de 48 setmanes i control. No hi ha diferències significatives entre el grup de 48 setmanes i els controls.

## PARÀMETRES BIOQUÍMICS

		N	Mitjana	Desviació estàndard	Interval de confiança al 95% per la mitjana	
					Límit inferior	Límit superior
AIGUA	0	5	81,1240	4,5106	75,5233	86,7247
	1	5	83,7740	5,8111	76,5585	90,9895
	Total	10	82,4490	5,0992	78,8013	86,0967
HEX/PT	0	5	124,9260	60,6528	49,6156	200,2364
	1	5	99,7560	30,7640	61,5575	137,9545
	Total	10	112,3410	47,2400	78,5475	146,1345
GLCN/HEX <sup>a</sup>	0	5	48,0760	9,1011	36,7755	59,3765
	1	5	37,1300	3,8421	32,3594	41,9006
	Total	10	42,6030	8,7553	36,3398	48,8662
GALN/HEX <sup>b</sup>	0	5	51,9240	9,1011	40,6235	63,2245
	1	5	62,8700	3,8421	58,0994	67,6406
	Total	10	57,3970	8,7553	51,1338	63,6602
QS/PT	0	5	3,8980	3,3370	-,2454	8,0414
	1	5	1,8120	1,6660	-,2566	3,8806
	Total	10	2,8550	2,7187	,9101	4,7999
DS	0	5	23,7820	7,2141	14,8245	32,7395
	1	5	50,5440	25,4526	18,9404	82,1476
	Total	10	37,1630	22,5833	21,0079	53,3181

a. Significació estadística (p\_valor=0.038)

b. Significació estadística (p\_valor=0.038)

**Taula 8.** Resultats de l'estudi estadístic dels paràmetres bioquímics dels grups del model artròsic en conjunt respecte als controls. Les mesures bioquímiques que presenten diferències significatives entre els dos grups són les de la glucosamina i de la galactosamina, que estan marcades a la taula 8 amb un superíndex. El p-valor ens indica si hi ha significació estadística (usualment si és menor de 0.05).

L'absència de diferència significativa entre les mitjanes es veu reflectit en el fet de que la mitjana d'un grup estigui inclosa en l'interval de confiança de l'altre grup. Llavors hi ha significació quan cap de les dues mitjanes està inclosa en l'interval de confiança de l'altra, com en els gràfics de la galactosamina i glucosamina considerant junts els grups de 28 i 48 setmanes respecte als controls. Com veiem en aquells gràfics, la mitjana de cap dels dos paràmetres bioquímics està inclosa en l'interval de confiança de la mitjana del grup control. A més a més cal tenir en compte que l'anàlisi estadística té més valor que els gràfics, que només són una descriptiva visual. El nivell de significació amb el que s'ha treballat és del 5%.

En el cas del dermatan sulfat sembla incompreensible que no hi hagi significació ja que la mitjana en el grup control és de 24 i la del grup de 48 setmanes és pràcticament de 50 a la taula 7. El problema està en la gran variabilitat que hi ha a les dades (p.e la desviació estàndard del grup de les 48 setmanes és de gairebé 30). Després d'agrupar el cas de les 28 setmanes amb els de les 48 setmanes, la desviació estàndard disminueix lleugerament sense que l'estudi d'aquest paràmetre assoleixi significació estadística. Si volguéssim detectar diferències entre aquestes dues mitjanes amb un error del 5% i una potència del 90% necessitaríem una mostra de 15 bens en cada grup. En el cas el cas del valor de l'hexosamina en relació al pes total, per detectar diferències entre les mitjanes observades hauríem necessitat 125 individus PER GRUP.

Una altra solució per no haver de treballar amb valors de mostra tant elevats seria buscar variables "confusores" que poguessin explicar part de la variabilitat que hi ha a les dades. En el nostre cas no disposem de més variables. Possiblement haguessin fet falta rèpliques de les mesures.



---

**DISCUSSIÓ**

La capacitat regenerativa del cartílag hialí està modulada per l'activitat proliferativa i metabòlica dels condrocits orientada a restaurar la integritat del teixit després de les agressions. D'altra banda, la intensitat dels diferents factors lesionals és determinant d'aquesta resposta. Els estudis poden abordar des de perspectives molt variades aquesta resposta però és important realitzar una síntesi que tingui en compte els principals aspectes d'aquesta reparació.

En aquesta línia, l'estudi morfològic qualitatiu en el nostre model va permetre la valoració de la distribució de les categories representatives de la reparació del cartílag. A continuació vam quantificar d'una banda, la resposta a l'agressió dels elements hístics del cartílag hialí articular (cèl·lules, *clusters*, matriu) i els que provenien dels teixits adjacents (vasos); d'altra banda vam quantificar la persistència de necrosi i fissures i l'aparició de fibrocartílag en substitució del cartílag hialí. Posteriorment vam analitzar la rugositat de la línia osteocondral. Finalment l'estudi bioquímic va aportar la mesura de proteoglicans i aigua del teixit cartilaginós.

## **I - ASPECTES MORFOLÒGICS DE LA LESIÓ EXPERIMENTAL DEL CARTÍLAG ARTICULAR**

Estudis previs sobre models d'artrosi animal creant lesions de gruix parcial (Calandruccio 1962) refereixen, com en el nostre, la presència de necrosi cel·lular adjacent a la zona de lesió, augment de la cel·lularitat a la capa superficial, proliferació de teixit fibrós des de la base de la lesió quan es penetra l'os subcondral, formació de *clusters* i invasió vascular a la base del cartílag. En canvi, refereixen també la formació de nou cartílag hialí i la reparació completa espontània dels defectes creats, que en el nostre estudi no s'han produït, probablement perquè l'estudi citat es va fer amb animals immadurs.

Lu (2000), en un model experimental d'artrosi amb lesions de gruix parcial del cartílag en bens, observa microscòpicament que immediatament després de crear les lesions la superfície apareix rugosa sense fissures. A les 24 setmanes, la superfície seguia essent rugosa però amb moltes fissures i *clusters* al voltant dels defectes creats experimentalment.

Altres estudis de models experimentals d'artrosi per alteració de les forces de càrrega (Reimann 1973) mostren resultats semblants amb l'aparició de fibril·lació superficial, fissures, presència de *clusters* que indiquen la proliferació de condrocits (Hulth 1970) i invasió de vasos des de l'os subcondral.

El contacte entre les dues superfícies articulares in vivo determina que els esglaons que pot presentar la superfície cartilaginosa després de crear-hi la lesió s'arrodoneixin amb el temps, produint un fenomen que la literatura anomena "cartilage flow" (Ghadially 1974). És de suposar que aquest fenomen s'ha produït en el teixit que hem estudiat perquè presentava vores arrodonides en els llocs on persistia una lesió creada en el cartílag, però no hem observat esglaons en la superfície excepte on havia aparegut una fissura.



La cel·lularitat del cartílag sa del be resulta ser major (5% de cèl·lules) que al cartílag humà (2% de cèl·lules) (Poole 2001). Tot i aquesta diferència, el model experimental ens permet fer comparacions entre els diferents grups de l'estudi amb una progressió temporal de la malaltia articular ja que utilitzem grups dels mateixos animals. En canvi, no podem comparar els resultats dels grups en estudi amb les dades del cartílag humà.

Stockwell (1971) comparà la cel·lularitat del cartílag a diferents espècies de mamífers i conclou que, en general, el cartílag de les espècies amb animals petits té una major cel·lularitat que els de les espècies més grans. Entre l'home i el be troba doncs una major cel·lularitat en el be respecte a l'home en una proporció entre 1,36 i 3,75 a 1. Un estudi previ del mateix autor (1967) troba una densitat cel·lular en el cartílag humà de 10 cèl·lules per  $0,22\text{mm}^2$  en l'estudi histològic. En el mateix treball es refereix una relació entre massa cel·lular i massa orgànica total de l'1 al 10%.

Mankin (1971) observa un augment de la cel·lularitat i mesura el grau de lesió del cartílag amb una escala histològica. Les variacions en la cel·lularitat observada entre els diferents graus d'artrosi no resulten ser significatives.

Colwell (2001) demostra en humans in vivo que després d'un insult mecànic, els condrocits entren en apoptosi i la densitat cel·lular del teixit disminueix al voltant de la lesió. El mateix fet s'observa en estudis in vitro (Patwari 2001, D'Lima 2001b) que sotmeten el teixit cartilaginós a càrregues excessives. La lesió directa dels condrocits i l'efecte indirecte a través de la lesió de la matriu extracel·lular mediada per citoquines ho poden explicar (Scully 2001). Així doncs, les nostres observacions de necrosi cel·lular i clivelles al voltant de les àrees de la superfície articular sotmeses al traumatisme experimental, coincideixen amb els estudis en animals d'experimentació i en humans. Aquest fet ja el refereix Carlson (1957) a un estudi amb conills i Solchaga (1996) a un estudi experimental sobre cartílag de bens orientat a trobar un sistema de regeneració del teixit. També Ghadially (1977) refereix la presència de fissures i fibril·lació superficial a conseqüència de canvis regressius i degeneratius del teixit després de la lesió inicial. L'orientació paral·lela de les fibres de col·lagen a la superfície articular amb interaccions febles entre elles pot ampliar les fissures produïdes durant l'evolució de la degeneració del cartílag. Aquest trencament pot augmentar degut a l'augment de tensió a les fibres produït per l'increment del contingut d'aigua del teixit. Però en baixar a capes més profundes del cartílag aquestes forces d'interacció entre fibres augmenten i limiten la progressió de les fissures (Broom 1984).

La inclusió del material histològic en material plàstic per a la seva secció provoca menys artefactes, com ara el trencament del teixit entre zones de diferent resistència, que la inclusió en parafina (Kaar 1998). Malgrat això, no podem descartar que el nostre material presentés alguns artefactes produïts durant la preparació del material i que cal diferenciar de les fissures, en particular quan es tracta de trencaments horitzontals a la interfase entre el cartílag calcificat i no calcificat (Meachim 1980).

Al voltant de les àrees necròtiques i de les clivelles és on s'aprecien en el nostre material més *clusters* de condrocits. L'existència de mecanismes reguladors del metabolisme dels condrocits sensibles a canvis de pressió (mecanismes de mecanotransducció) (Salter 2001) podria explicar aquesta proliferació cel·lular per donar lloc als *clusters*.

En un estudi de Meachim (1963) en conills i amb un model experimental semblant al nostre, refereix l'aparició de *clusters* de condrocits a gairebé tots els animals després de 6 setmanes a les zones transicional i radial. Aquest augment de cel·lularitat produït per divisió mitòtica dels condrocits (Hulth 1970) representa un intent de reparació de la lesió per part del teixit. Jackson (2001), treballant amb cabres i creant una lesió fins a l'os subcondral refereix l'aparició de *clusters* a les 48 hores de la creació de la lesió augmentant fins a la setmana.

Matyas (1995) refereix una disminució inicial de la densitat cel·lular del cartílag i un augment moderat del nombre de *clusters* en el procés degeneratiu observat experimentalment a un model oví per menisectomia.

L'estudi de Shahgaldi (1991) sobre un model d'artrosi utilitzant els còndils femorals de 19 cabres descriu l'aparició d'un teixit fibrós a la superfície articular que degenerava als 6-12 mesos, probablement per manca de resistència mecànica. Lu (2000) descriu, en un model semblant amb bous, l'aparició d'un teixit fibrós a les 12 setmanes que mostra característiques de fibrocartílag a les 24 setmanes.

L'estudi amb microscopi òptic de la *tidemark* en el nostre material mostra un augment del nombre de línies que la configuren en els casos artròsics respecte als grups control així com una discontinuïtat variable de les línies. Meachim (1984) coincideix amb aquesta observació i atribueix aquest fenomen a una reactivació de la calcificació de la capa del cartílag calcificat i una progressió d'aquesta capa vers a la superfície articular. L'augment de la vascularització a la capa calcificada del cartílag artròsic recolzaria aquesta hipòtesi per la necessitat d'aportar ions calci per aquest procés.

### ANÀLISI QUALITATIVA

L'estudi morfològic de les mostres s'ha realitzat utilitzant només les variables categòriques que s'han considerat importants en cada grup perquè aportaven informació addicional a l'obtinguda amb els altres mètodes. En relació a l'estudi histomorfomètric que posa l'accent en el percentatge de cadascun dels elements histològic presents a cada grup, l'estudi qualitatiu ha permès identificar directament els teixits necrosats o la presència del fibrocartílag i la distribució de tots els elements hístics. D'altra banda, i comparant amb l'estudi bioquímic, la safranina O ens permet observar la distribució dels PG a les zones pericel·lular i interterritorial de les capes superficial i profunda.

Els anells metacromàtics que apareixen al voltant de les cèl·lules es poden interpretar com una prova de síntesi de GAG sulfatats (Meachim 1963). En aquest sentit, hem utilitzat la valoració qualitativa de la tinció amb Safranina O en les mostres histològiques.

En els controls, la tinció de safranina O mostra un **patró difús** a la superfície del cartílag articular. A la zona profunda, el patró de tinció **pericel·lular** predomina sobre el patró interterritorial a la zona calcificada o és **difús** a la zona radial (taula 3). Aquests patrons de normalitat seran molt útils per comparar-los amb el comportament en els casos de 28 i 48 setmanes d'evolució i permetran correlacionar les observacions anteriors amb les troballes bioquímiques.

A les 28 setmanes la cel·lularitat individual no augmenta a la superfície del cartílag, està disminuïda quan existeix necrosi però augmenta quan s'associa a la presència de fibrocartílag, en particular en el cas del defecte total. La reacció de *clusters* compensarà aquesta disminució de cel·lularitat. La matriu superficial manté la tinció pericel·lular al voltant de condrocits i *clusters*; en canvi, l'edema o el teixit fibrocartilaginós s'associen a una disminució de la tinció interterritorial. A la part profunda hi ha només augment de cèl·lules al defecte profund o al fibrocartílag i la matriu manté el patró dels controls, excepte al defecte profund que presenta nombrosos vasos al seu voltant i s'associa amb discontinuïtat de la *tidemark* (taula 4).

A les 48 setmanes la cel·lularitat superficial només està augmentada al fibrocartílag o augmenta a expenses dels *clusters* a la resta del cartílag superficial. La matriu manté el patró de tinció pericel·lular intensa en particular al voltant dels *clusters*, excepte a les zones de fibrocartílag. I a la part profunda les cèl·lules de vegades formen *clusters* però només augmenten al fibrocartílag, com a la superfície, i la matriu manté el mateix patró dels grups anteriors excepte al fibrocartílag. Aquí també s'observa neovascularització associada a teixit de reparació fibrocartilaginós amb discontinuïtat de la *tidemark*.

L'estudi quantitatiu no va discriminar les lesions de necrosi o de reparació amb teixit fibrocartilaginós quan no eren molt extenses però les observacions amb el microscopi òptic van permetre interpretar les variacions de cel·lularitat, d'intensitat de tinció i de la quantitat de matriu, de neovascularització i de la *tidemark* que inicialment no semblaven relacionades amb els dos paràmetres anteriors.

En aquest estudi les variables categòriques mostren que el procés reparatiu continua activament a la superfície del cartílag hialí fins a les 48 setmanes implicant un augment de cel·lularitat a expenses dels *clusters* en les zones de cartílag hialí, amb un patró de tinció pericel·lular intensa en particular al voltant dels *clusters*. Però aquesta reparació no és efectiva en el sentit que augmenta la necrosi i persisteix el teixit fibrocartilaginós associat a la neovascularització amb discontinuïtat de la *tidemark* al mateix nivell. El desequilibri existent entre el procés reparatiu i el procés destructiu es tradueix en un aprimament progressiu del cartílag articular que inclús arriba a desaparèixer de forma focal en el grup de les 104 setmanes.

## ANÀLISI QUANTITATIVA

L'estudi que presentem es basa en experiments realitzats en 15 animals dividits en 4 grups. Encara que seria desitjable disposar d'una mostra més extensa per a l'estudi, podem trobar articles publicats en revistes de prestigi (Jackson 2001) que es basen en mostres d'una mida similar. De fet, l'estudi esmentat no ofereix cap anàlisi quantitativa ni estadística. Els grups en estudi no eren homogenis i comprenien generalment 3 animals excepte un grup de 2 i un altre de 4.

Ja hem esmentat unes restriccions a l'estudi histomorfomètric com la limitació d'aquest a defectes parcials del cartílag amb exclusió de lesions profundes que afectin el límit osteocondral. D'altra banda, hem de considerar que la selecció de les mostres ha estat limitada també per la necessitat de fer altres estudis i pot oferir una imatge incompleta de la superfície lesionada; i finalment, aquesta limitació de les mostres impedeix l'estudi del gruix total del cartílag. Per obviar aquests inconvenients, l'estudi

s'ha realitzat tant del punt de vista morfomètric com morfològic, dividint el cartílag arbitràriament en dues zones, superficial i profunda. Degut a l'aprimament del cartílag, en alguns casos generalment més evolucionats (de 48 o més setmanes), era impossible definir el límit de les dues zones, raó per la qual es van avaluar amb certa superposició en el seu límit.

L'augment de cèl·lules individuals de les mostres lesionades respecte a les mostres de cartílag sa no és estadísticament significatiu a nivell superficial a cap grup. A nivell profund només és significatiu l'augment en el grup de 48 setmanes. Tanmateix, la cel·lularitat total augmenta significativament respecte als controls en la superfície del cartílag en els grups de 28 i 48 setmanes a expenses de l'augment dels *clusters*, que mostren augments significatius en tots els grups. D'altra banda, en la capa profunda del cartílag, només en el grup de 48 setmanes augmenta significativament la cel·lularitat total. Aquestes dades suggereixen una resposta més activa a la superfície del cartílag lesionat.

La presència de necrosi era ocasionalment difícil de valorar, en particular quan es tractava de necrosi de condrocits aïllats o quan es superposava a la matriu cartilaginosa. En cap cas era significativa estadísticament a nivell superficial ni profund malgrat ser present als grups de 28 i 48 setmanes a la superfície. L'afectació excepcional de la zona profunda recolza l'adequació de la mostra estudiada al model d'artrosi precoç.

La presència de fissures augmenta superficialment fins les 48 setmanes assolint significació estadística en aquest grup. Posteriorment estan tant disminuïdes que no es poden detectar quantitativament i només ho poden ser a l'estudi histològic. Aquesta afectació superficial, tot i que excepcionalment s'extén a la zona profunda, és la que podíem esperar en el nostre model d'artrosi precoç.

L'aparició de vasos a la capa de cartílag calcificat als nostres controls és una troballa excepcional. En canvi, estan presents en el cartílag lesionat i augmenta la seva presència fins a les 48 setmanes. L'increment ocasional del seu nombre a la capa superficial a les 28 setmanes en relació al grup de 48 setmanes probablement és degut a la disminució considerable, en algun cas, del gruix del cartílag després de crear la lesió, o en d'altres casos a la proximitat d'un defecte total. Encara que s'ha intentat crear una lesió semblant a tots els animals, a nivell microscòpic no podem assolir aquest grau de precisió en la creació del model experimental. Tot i l'evident augment d'aquest paràmetre en els grups de 28 i 48 setmanes, les xifres a la capa profunda només arriben a ser significatives estadísticament al grup de 48 setmanes probablement per l'excessiva variabilitat entre les mostres de diferents animals. Tanmateix l'exclusió de les zones que presentaven un defecte total pot no haver estat suficient per anular la seva influència en la quantificació. Curiosament, a les 104 setmanes la presència de vasos disminueix i aquest fet es podria atribuir a l'avanç de l'os subcondral.

La quantificació de la matriu cartilaginosa disminueix progressivament tant a nivell superficial com profund fins a les 48 setmanes. Aquesta disminució es pot interpretar com relativa i està influïda per les fissures i la cel·lularitat total superficials principalment amb una participació menor de la necrosi o el fibrocartílag; i en les capes profundes pot ésser fins a cert punt influenciada per la presència de vasos i fibrocartílag. La disminució relativa de la matriu és significativa tant a la capa superficial com a la

profunda a les 48 setmanes. Tanmateix, l'edema que apareix a la superfície del cartílag podria emmascarar una reducció de la matriu funcional des del punt de vista biomecànic més accentuada que el que reflecteixen les dades quantitatives.

Globalment, la disminució del gruix del cartílag és més aparent en l'estudi histològic del grup de les 48 setmanes, com ja s'ha comentat prèviament, indicant una disminució absoluta de la matriu. Inicialment, ens vam plantejar l'interès d'avaluar el gruix del cartílag. Aquest estudi suposa l'aplicació de tècniques estereològiques complexes fora del nostre abast; d'altra banda requereix un nombre de seccions histològiques del que no disposàvem per ser representatiu de la totalitat.

En la imatge histològica, el fibrocartílag mostra variacions tant de la cel·lularitat com de la matriu que ofereixen un ventall d'imatges de transició entre els teixits cartilaginós i conjuntiu. L'estudi quantitatiu no discrimina lesions molt evidents al microscopi òptic. Com en el cas de la necrosi, la presència de teixit fibrocartilaginós només va ser detectada en l'estudi quantitatiu quan era abundant. Els casos amb més fibrocartílag són també els que presenten un major augment de la cel·lularitat individual i una disminució més acusada de la matriu (casos 595 i 487 a les 28 setmanes i 606 i 611 a les 48 setmanes). Les zones superficial i profunda estan afectades en els mateixos casos i s'observa la discontinuïtat de la *tidemark* que s'associa a una neovascularització, la qual cosa suggereix que es tracta d'un defecte que afecta la totalitat del cartílag articular.

Dins del nostre model d'artrosi, per tant, la resposta cel·lular aparentment no és capaç de compensar el defecte provocat per l'agressió experimental; no es regenera *ad integrum* el teixit cartilaginós en els defectes superficials i, en les zones que presenten defectes profunds, la neovascularització tendeix a evolucionar cap a l'ossificació i, als casos més evolucionats, es pot produir l'exposició d'os subcondral a la superfície articular. Per aquesta raó, els casos de 104 setmanes d'evolució, que presenten imatges de defectes semblants a l'eburnització, probablement corresponen a una fase d'artrosi avançada i no es poden incloure en el nostre model d'artrosi precoç.

## ÍNDIX DE RUGOSITAT

El cartílag sa resisteix bé la compressió però no les forces de cizallament (Tomatsu 1992). Amb el procés degeneratiu sembla lògic pensar que augmenta la fragilitat del teixit i per tant la seva susceptibilitat a les lesions per cizallament. En el cartílag artròsic s'ha descrit un augment del nombre de línies de la *tidemark* i un augment de la seva irregularitat que s'ha relacionat amb un intent d'augmentar la superfície de contacte entre les capes radial i calcificada quan el teixit ja no fa la seva funció d'esmoreir càrregues; l'excés de forces rebudes podria trencar la unió de les dues capes (Bullough 1983, Lane 1977, Meachim 1984, Müller-Gerbl 1987).

Müller-Gerbl (1987) atribueix a la gran ondulació de la *tidemark* i la línia osteocondral la responsabilitat en la gran variació que es pot produir en les mesures de les seves longituds respecte a la línia recta. En canvi, segons l'autor, la mesura del gruix entre les dues línies, que és la capa de cartílag calcificada, dona uns resultats amb menys variabilitat i millor reproductibilitat.

En el cartílag, la calcificació és un procés actiu que es produeix de forma fisiològica (Bullough 1983). Per tant si canvien les forces que actuen a una articulació podem pensar que aquest procés també es veurà afectat. En un model animal previ està descrit un "...augment del gruix de la zona de calcificació sota el cartílag. En comptes de la seva forma regular i aprimada, l'àrea de calcificació es va eixamplar, fusionant-se amb les trabècules de sota que apareixien irregulars i engruixides" (Trias 1961).

En el nostre material va resultar ser molt difícil mesurar la *tidemark* perquè estava generalment desdoblada, la qual cosa plantejava la qüestió de quina línia utilitzar i, a més a més, era sovint discontinua. Per això vàrem decidir estudiar la irregularitat de la línia osteocondral amb la hipòtesi que es veuria un augment de la seva irregularitat en el teixit lesionat del nostre model.

El paràmetre que hem anomenat índex de rugositat representa la irregularitat de la línia osteocondral, és a dir, de la unió entre el cartílag calcificat i l'os subcondral. Teshima (1999) observa un augment de la irregularitat de l'os subcondral a zones de càrrega en caps femorals sans, obtinguts de pacients intervinguts per fractures del coll femoral, respecte a zones de menys càrrega dels mateixos caps femorals. Els nostres resultats, fent servir un sistema de càlcul diferent, no mostren diferències estadísticament significatives entre el grup control i la resta de grups. Tampoc s'han demostrat diferències significatives entre els individus dels diferents grups en el nostre model. Aquesta troballa sembla indicar que no hi ha una diferència entre les càrregues suportades en cap cas a nivell profund i per tant que el nostre model suggereix l'existència de lesions superficials compatibles amb una artrosi precoç.

## **II - ASPECTES BIOQUÍMICS DE LA LESIÓ EXPERIMENTAL DEL CARTÍLAG ARTICULAR**

Els estudis de Mankin (1962, 1971) han posat les bases dels paràmetres a estudiar des del punt de vista bioquímic a la valoració de l'artrosi. La relació de l'hexosamina respecte al pes total (Hex/PT) es un indicador del contingut en glicosaminoglicans (GAG) totals i per tant de la quantitat total de proteoglicans (PG) (Mankin 1971). El nivell d'hexosamina augmenta amb la severitat de l'artrosi fins arribar a un punt en que disminueix potser perquè la síntesi de PG ja no compensa el seu catabolisme.

Els nostres resultats bioquímics mostren un alt grau de variació entre les diferents mostres, variacions que es produeixen també en alguns estudis entre mostres del mateix teixit (von der Mark 1992), i que dificulten l'obtenció de conclusions quantitatives generals. Com ja hem comentat prèviament, les mesures de les 28 setmanes corresponen a un sol cas i per tant no es poden treure conclusions vàlides quant a la seva significació estadística aïllada. En conseqüència, hem afegit l'estudi dels casos del model d'artrosi en conjunt per valorar la seva significació front als controls.

El contingut d'aigua augmenta inicialment a les 28 setmanes per disminuir a les 48, però es manté sempre per sobre del valor dels casos control. Els estudis previs mostren també que el cartílag artròsic presenta un augment del seu contingut d'aigua i un augment de la permeabilitat que alteren les propietats mecàniques del teixit (Armstrong 1982, Brocklehurst 1984, Venn 1977). L'augment d'aigua fa que el teixit sigui més tou (cf. grau I de la condromalàcia segons Outerbridge). La desorganització

de la xarxa col·làgena permet una hiperhidratació dels PG que poden tenir un volum més gran que en el cartílag sa (Maroudas 1977). I la mateixa desorganització permet un flux més ràpid de la fase líquida amb els canvis de càrrega a través del teixit.

El nivell d'hexosamina en relació al pes total disminueix al teixit lesionat en els nostres resultats indicant una disminució del contingut total de GAG. La literatura ho confirma amb nombrosos estudis (Ehrlich 1980, Mankin 1981, Maroudas 1977, Radin 1978, Venn 1977). Aquest fet l'observa Mankin (1971) a uns estudis realitzats amb cartílag de caps femorals obtinguts de pacients amb fractures del cap de fèmur, i aquesta disminució de PG s'acompanya d'un augment de l'activitat metabòlica dels condrocits, indicant que en el cartílag artròsic es produeix un augment del catabolisme. Per explicar aquesta disminució en el contingut de PG també cal tenir en compte algunes dades que ofereix la literatura (Mankin 1997):

1. Els PG del cartílag artròsic són més fàcilment extraïbles que en el cartílag sa.
2. La proporció de PG del cartílag artròsic que formen agregats és menor respecte al cartílag sa.

Aquestes dades indicarien la possibilitat d'una fuga de PG fora del teixit en el cartílag artròsic. I podem confirmar-ho clínicament per la detecció de nivells elevats de PG i anticossos antiagrecà en el líquid sinovial de pacients amb artrosi (Karopoulos 1996).

Els resultats de l'estudi bioquímic de les mostres de cartílag lesionat en el nostre estudi indiquen un augment del nivell de galactosamina en relació al contingut total d'hexosamines respecte als controls. La galactosamina, que indica el nivell de condroitin sulfat, mostra la mateixa evolució que altres estudis (Heinegård 1987, McDevitt 1976 i 1977, von der Mark 1990). En canvi, la quantitat de glucosamina en relació a les hexosamines totals està disminuïda respecte als valors control. Aquest paràmetre indica el nivell de queratan sulfat i mostra una evolució paral·lela a les mesures del queratan sulfat respecte al pes total, que disminueix en les mostres del cartílag lesionat.

Només quan es consideren conjuntament els grups de 28 i 48 setmanes en el nostre model d'artrosi experimental, les mesures de galactosamina i glucosamina mostren diferències estadísticament significatives en els genolls lesionats respecte al grup control.

Els PG més petits contenen preferentment queratan sulfat i són els que es perden més ràpidament en el procés degeneratiu del cartílag i en els models experimentals d'artrosi per lesió superficial (Bayliss 1983).

En el cartílag artròsic se sap que augmenta la concentració de condroitin sulfat (sobretot gràcies al 4-sulfat de condroitina) i disminueix la concentració de queratan sulfat. S'han donat diverses explicacions a aquest fet (Mankin 1997):

1. Els condrocits del cartílag artròsic sintetitzen PG que es troben més freqüentment al cartílag immadur.

2. Podria ser que existís una degradació asimètrica de la porció del PG que pot atacar selectivament la zona d'unió a l'hialuronat o la regió que conté el queratan sulfat.
3. Existeixen dues poblacions de PG: una rica en condroitin sulfat i l'altra rica en queratan sulfat. Si es lesiona la xarxa col·làgena, tal com passa a l'artrosi, els PG petits, per tant més rics en queratan sulfat, es podran perdre amb més facilitat que els grans.

L'augment de dermatan sulfat en els cartíl·lats lesionats en el nostre model indica un augment de la concentració dels PG de baix pes molecular, concretament biglicà i decorina, que es consideren molècules reguladores. Little (1996) relaciona aquest augment, en el cas concret del biglicà, amb l'organització de la matriu pericel·lular i la protecció mecànica que aquesta pot aportar a la cèl·lula en un teixit lesionat en el qual han variat les distribucions de les càrregues. Witsch-Prehm (1992) considera que la decorina podria augmentar la resistència biomecànica del teixit cartilaginós mitjançant una combinació d'interaccions entre GAG i entre el col·lagen i la proteïna central d'aquesta molècula.

La concentració de dermatan sulfat augmenta cap als 15-25 anys al cartílag articular humà i disminueix cap als 55 anys. Aquest augment i posterior disminució del contingut de dermatan sulfat es podria correlacionar amb les taxes de deposició i manteniment de la xarxa de fibres de col·lagen (Sampaio 1988). L'augment observat en el model animal d'artrosi recolza la idea que al cartílag artròsic es produeixen canvis propis del cartílag immadur.

Però no totes aquestes diferències a nivell bioquímic són estadísticament significatives segons el nostre estudi estadístic. Un dels problemes principals és la variabilitat de les mesures obtingudes. Això pot ser degut a la pròpia tècnica d'obtenció de les mesures bioquímiques que està afectada per una certa variabilitat (Mankin 1971) i a factors propis dels animals. La mobilitat activa de l'animal afecta el contingut en PG del cartílag (Ghosh 1990, Kiviranta 1988) i com que no es va controlar aquest factor assegurant que els animals recorreguessin les mateixes distàncies aquest pot ser un factor que influeix en el resultat. De tota manera, és un factor molt difícil d'estandarditzar si considerem que caldria un control diari de cadascun dels animals al llarg dels quatre anys que ha durat l'estudi. Un altre factor propi de cada animal són les característiques pròpies de cada individu. Aquest factor només es podria superar augmentant la quantitat d'animals de cada grup, cosa que és bastant difícil perquè les institucions que controlen els estudis realitzats amb animals limiten al màxim el nombre d'animals dedicats a cada estudi. Un factor relacionat amb l'animal i amb la tècnica del model experimental que hem estudiat és la pròpia lesió creada per nosaltres al cartílag articular. Aquesta lesió s'ha intentat fer igual a tots els animals, però hi pot haver hagut variacions importants en el procediment quirúrgic general (artrotomia i exposició de l'articulació) i en la creació de la lesió que s'ha fet amb una fresa però sense utilitzar una guia o suport que permeti crear una lesió exactament igual a tots els animals. Finalment, la pròpia naturalesa de la malaltia que estudiem és la d'un procés degeneratiu focal (Mankin 1971). Això vol dir que, a l'artrosi idiopàtica, podem trobar a la mateixa articulació zones amb una lesió molt important del cartílag al costat d'altres pràcticament normals.



Els esforços d'investigació en la patologia articular s'han centrat en els darrers anys en la busca d'una tècnica que permeti la reparació del cartílag articular lesionat. Inicialment, la substitució protèsica d'una articulació va suposar un canvi radical en el tractament de la malaltia degenerativa articular. Però els seus resultats han estat sempre limitats en el temps i per això s'està intentant reparar el teixit cartilaginós original o aconseguir un teixit biològic en lloc de substituir-lo per un teixit inert. Això ha donat lloc al desenvolupament de moltes tècniques per intentar la reparació o regeneració del cartílag articular lesionat. Malgrat l'opinió d'alguns autors (Buckwalter 1999a) sobre la necessitat d'avaluar ara l'aplicació i resultats clínics d'aquestes tècniques, cal no tancar la porta a l'aparició de noves tècniques que permetin arribar a l'objectiu de millorar els símptomes i la funció articular dels pacients que presenten lesions del cartílag articular del tipus de l'artrosi precoç.

---

**CONCLUSIONS**

1- L'artrosi és un procés degeneratiu localitzat dins l'articulació en el que coexisteixen zones de cartílag lesionades amb zones de cartílag sa.

2- Per crear un model experimental d'artrosi precoç, la lesió ha de ser superficial i no arribar a l'os subcondral, ja que si fos així el model creat seria el d'una artrosi ja tractada amb perforacions tipus Pridie.

3- La lesió mecànica de la superfície del cartílag articular hialí produeix fissures de la matriu cartilaginosa adjacent, associades a canvis necròtics cel·lulars, que comprometen les propietats biomecàniques del teixit.

4- En el nostre model experimental en bous adults, l'agressió mecànica indueix una reacció dels condrocits del cartílag articular que mantenen la capacitat de produir proteoglicans i proliferen en un intent, generalment insuficient, de reparar el teixit lesionat. La proliferació dels condrocits dona lloc als acúmuls anomenats *clusters*. La persistència de l'activitat metabòlica es tradueix a nivell histològic en l'aparició de tinció pericel·lular al voltant de condrocits i *clusters* degut a la presència de proteoglicans amb apetència per la tinció amb safranina O. Aquestes troballes s'observen a les capes superficials, mentre que les capes profundes mostren pocs canvis.

5- L'estudi bioquímic mostra també canvis típics del cartílag artròsic com són un augment del contingut d'aigua, una disminució de la quantitat de glucosaminoglicans de la matriu, una disminució del queratan sulfat i un augment del condroitin sulfat.

6- Les lesions que afecten únicament les capes superficials del cartílag articular hialí no es reparen espontàniament; els condrocits responen com al cartílag immadur, és a dir, amb proliferació i producció d'algunes molècules com ara dermatan sulfat i condroitin sulfat. La matriu generada és inadequada tant des del punt de vista quantitatiu com qualitatiu.

7- En canvi, les lesions que penetren fins l'os subcondral indueixen l'aparició d'un teixit reparatiu fibrocartilaginós, que ocupa la zona del defecte creat gràcies a l'aportació de cèl·lules pluripotencials que arriben a la lesió acompanyant els vasos subcondrals.

8- L'estudi de la irregularitat de la línia osteocondral aporta un nou paràmetre en la definició dels canvis estructurals microscòpics de l'artrosi precoç experimental, encara que no mostra diferències significatives entre els individus ni els grups del nostre model. Aquesta troballa pot atribuir-se a l'absència de repercussió de l'agressió mecànica a la zona profunda.

9- L'escarificació de la superfície del cartílag articular del genoll en el be produeix canvis histològics i bioquímics típics de l'artrosi que no guareixen espontàniament. Als dos anys de produir la lesió s'observa una exposició d'os subcondral que no permet incloure el grup corresponent dins el model d'artrosi precoç. Així doncs, els experiments que utilitzin aquest model per estudiar el tractament de l'artrosi precoç hauran de realitzar-se abans dels dos anys de crear la lesió del cartílag articular.

---

## **BIBLIOGRAFIA**

Adams ME, Matyas JR, Huang D, Dourado GS. Expression of proteoglycans and collagen in the hypertrophic phase of experimental osteoarthritis. *J Rheumatol suppl* 1995; suppl 43, vol 22: 94-97

Ahmad CS, Cohen ZA, Levine WN, Ateshian GA, Mow VC. Biomechanical and Topographic Considerations for Autologous Osteochondral Grafting in the Knee. *Am J Sports Med* 2001; 29: 201-206

Akeson WH, Bugbee W, Chu C, Giurea A. Normal Cartilage Repair. Differences in Mesenchymal Tissue Repair. *Clin Orthop* 2001; 391S: 124-141

Akeson WH, Gershuni DH. Articular Cartilage Physiology and Metabolism in Health and Disease. En: Resnik and Niwayama. *Diagnosis of Bone and Joint Disorders*. Philadelphia: Ed. Saunders, 1981; Vol 1. Pg. 175

Akizuki Sh, Yasukawa Y, Takizawa T. Does Arthroscopic Abrasion Arthroplasty Promote Cartilage Regeneration in Osteoarthritic Knees With Eburnation? A Prospective Study of High Tibial Osteotomy With Abrasion arthroplasty Versus High Tibial Osteotomy Alone. *Arthroscopy* 1997; 13 (1): 9-17

Amiel D, Coutts RD, Abel M, Stewart W, Harwood F, Akeson WH. Rib perichondral grafts for the repair of full-thickness articular cartilage defects. *J Bone Joint Surg* 1985; 67A: 911-920

Archer ChW, Morrison H, Pitsillides AA. Cellular aspects of the development of diarthrodial joints and articular cartilage. *J Anat* 1994; 184: 447-456

Armstrong CG, Gardner DL. Thickness and distribution of human femoral head articular cartilage. *Ann Rheum Dis* 1977; 36: 407-412

Armstrong CG, Mow VC. Variations in the intrinsic mechanical properties of human articular cartilage with age, degeneration, and water content. *J Bone Joint Surg* 1982; 64A (1): 88-94

Armstrong S, Read R, Ghosh P. The effects of intraarticular hyaluronan on cartilage and subchondral bone changes in an ovine model of early osteoarthritis. *J Rheumatol* 1994; 21(4): 680-688

Baumgaertner MR, Cannon DJr, Vittori JM, Schmidt ES, Maurer RC. Arthroscopic Debridement of the Arthritic Knee. *Clin Orthop* 1990; 253: 197-202

Bayliss MT, Venn M, Maroudas A, Ali SY. Structure of proteoglycans from different layers of human articular cartilage. *Biochem J* 1983; 209: 387-400

Benjamin M, Evans J. Research Review. Fibrocartilage. *J Anat* 1990; 171: 1-15

Benninghoff A. Form und Bau der Gelenkknorpel in ihren Beziehungen zur Funktion. II Der Aufbau des Gelenkknorpels in seinen Beziehungen zur Funktion. *Zeitschrift für*

Zellforschung und mikroskopische Anatomie 1925; 2: 783-867. Citat per Bullough 1984.

Bentley G. Papain-induced degenerative arthritis of the hip in rabbits. *J Bone Joint Surg Br* 1971; 53B: 324-337

Bentley, G: Reparación del cartilago articular. A: Owen, R; Goodfellow, J; Bullough, P: Fundamentos científicos de Ortopedia y Traumatología. Salvat. Barcelona. 1984. pg. 325-329 (a)

Bentley, G. Articular cartilage changes in chondromalacia patellae. *J Bone Joint Surg Br* 1985; 67B: 769-774

Bentley G, Dowd G, Orth M Ch. Current Concepts of Etiology and Treatment of Chondromalacia Patellae. *Clin Orthop* 1984; 189: 209-228 (b)

Bentley G, Minas T. Treating joint damage in young people. *BMJ* 2000; 320: 1585-1588

van den Berg WB. Growth factors in experimental osteoarthritis: transforming growth factor beta pathogenic? *J Rheumatol*. 1995; Suppl. 43: 143-145

Boniface RJ, Cain PR, Evans CH. Articular responses to purified cartilage proteoglycans. *Arthritis Rheum* 1988; 31(2): 258-266

Bonnel F, Mansat Ch, Jaeger JH. *La Gonartrosis*. Barcelona: Masson, 1990

Breinan HA, Hsu H-P, Spector M. Chondral Defects in Animal Models: Effects of Selected Repair Procedures in Canines. *Clin Orthop* 2001; 391S: 219-230

Breinan HA, Martin SD, Hsu H-P, Spector M. Healing of Canine Articular Cartilage Defects Treated with Microfracture, a Type-II Collagen Matrix, or Cultured Autologous Chondrocytes. *J Orthop Res* 2000; 18: 781-789

Breinan HA, Minas T, Hsu H-P, Nehrer S, Shortkroff S, Spector M. Autologous chondrocyte implantation in a canine model: change in composition of reparative tissue with time. *J Orthop Res* 2001; 19(3): 482-492

Breinan HA, Minas T, Hsu HP, Nehrer S, Sledge CB, Spector M. Effect of cultured autologous chondrocytes on repair of chondral defects in a canine model. *J Bone Joint Surg Am* 1997; 79A: 1439-1451

Brittberg M, Nilsson A, Lindahl A, Ahlsson C, Peterson L. Rabbit Articular Cartilage Defects Treated With Autologous Cultured Chondrocytes. *Clin Orthop* 1996; 326: 270-283

Brocklehurst R, Bayliss MT, Maroudas A, Coysh HL, Freeman MAR, Revell PA, Ali SY. The Composition of Normal and Osteoarthritic Articular Cartilage from Human Knee Joints. *J Bone Joint Surg* 1984; 66A (1): 95-106

Broom ND. Further insights into the structural principles governing the function of articular cartilage. *J Anat* 1984; 139: 275-294

Brower TD, Akahoshi Y, Orlic P. The diffusion of dyes through articular cartilage in vivo. *J Bone Joint Surg Am* 1962; 44A: 456-463

Buckwalter J. Evaluating Methods of Restoring Cartilaginous Articular Surfaces. *Clin Orthop* 1999; 367S: 224-238 (a)

Buckwalter J, Coutts R, Hunziker E, Mow VC. Breakout Session 3: Articular Cartilage. *Clin Orthop* 1999; 367S: 239-243 (b)

Buckwalter J, Mankin HJ. Articular cartilage I. Tissue design and chondrocyte-matrix interactions. *J Bone Joint Surg Am* 1997; 79A: 600-611

Buckwalter J, Mankin HJ. Articular cartilage II. Degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration and transplantation. *J Bone Joint Surg Am* 1997; 79A: 612-632

Buckwalter J, Woo S L-Y, Goldberg VM, Hadley EC, Booth F, Oegema TR, Eyre DR. Current Concepts Review. Soft-Tissue Aging and Musculoskeletal Function. *J Bone Joint Surg* 1993; 75A (19): 1533-1548

Bullough, PG: Cartílago. A: Owen, R; Goodfellow, J; Bullough, P: Fundamentos científicos de Ortopedia y Traumatología. Salvat. Barcelona. 1984. pg. 11-18

Bullough PG, Jagannath A. The morphology of the calcification front in articular cartilage. Its significance in joint function. *J Bone Joint Surg Br* 1983; 65B: 72-78

Burwell RG. Editorials and Annotations. Skeletal Allografts for Synovial Joint Reconstruction. *J Bone Joint Surg Br* 1970; 52B: 10-13

Burwell RG, Friedlaender GE, Mankin HJ. Current Perspectives and Future Directions: The 1983 Invitational Conference on Osteochondral Allografts. *Clin Orthop* 1985; 197: 141-157

Butnariu-Ephrat M, Robinson D, Mendes DG, Halperin N, Nevo Z. Resurfacing of goat articular cartilage by chondrocytes derived from bone marrow. *Clin Orthop* 1996; 330: 234-243

Calandruccio RA, Gilmer WS Jr. Proliferation, regeneration, and repair of articular cartilage of immature animals. *J Bone Joint Surg Am* 1962; 44A: 431-455

Campbell CJ. The Healing of Cartilage Defects. *Clin Orthop.* 1969; 64: 45-63

Campbell CJ, Ishida H, Takahashi H, Kelly F. The transplantation of articular cartilage. *J Bone Joint Surg* 1963; 45A: 1579-1592

Caplan AI, Elyaderani M, Mochizuki Y, Watkitani S, Goldberg VM. Principles of Cartilage Repair and Regeneration. *Clin Orthop* 1997; 342: 254-269



Carlson H. Reactions of Rabbit patellary cartilage following operative defects. *Acta Orthop Scand* 1957; suppl 28: 318-320

Casscells SW. Gross pathological changes in the knee joint of the aged individual. A study of 300 cases. *Clin Orthop* 1978; 132: 225-232

Cebamanos Celma J. Estudio experimental en el conejo del proceso de reparación de los defectos osteocondrales mediante el empleo de un injerto de periostio y un biomaterial. Tesis doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona. 1992

Chen Ch-T, Burton-Wurster N, Lust G, Bank RA, Tekoppele JM. Compositional and Metabolic Changes in Damaged Cartilage are Peak-Stress, Stress-Rate, and Loading-Duration Dependent. *J Orthop Res* 1999; 17: 870-879

Cheung HS, Cottrell WH, Stephenson K, Nimni ME. In Vitro Collagen Biosynthesis in Healing and Normal Rabbit Articular Cartilage. *J Bone Joint Surg* 1978; 60A: 1076-1081

Cheung HS, Lynch KS, Johnson RP, Brewer BJ. In Vitro Synthesis of Tissue Specific Type II Collagen by Healing Cartilage. I. Short-term Repair of Cartilage by Mature Rabbits. *Arthritis Rheum* 1980; 23: 211-219

Chrisman OD. Biochemical Aspects of Degenerative Joint Disease. *Clin Orthop*. 1969; 64: 77-86

Clark JM. The organisation of collagen fibrils in the superficial zones of articular cartilage. *J Anat* 1990; 171: 117-130

Clark JM, Norman AG, Käab MJ, Nötzli HP. The surface contour of articular cartilage in an intact, loaded joint. *J Anat* 1999; 195: 45-56

Clarke IC. Articular cartilage: A review and scanning electron microscope study. *J Bone Joint Surg Br* 1971; 53B: 732-750

Coletti JM, Akeson WH, Woo SL-Y. A comparison of the physical behavior of normal articular cartilage and the arthroplasty surface. *J Bone Joint Surg* 1972; 54A: 147-160

Colwell CWJr, D'Lima DD, Hoenecke HR, Fronek J, Pulido P, Morris BA, Chung Ch, Resnick D, Lotz M. In Vivo Changes After Mechanical Injury. *Clin Orthop* 2001; 391S: 116-123

Colwell CWJr, D'Lima DD, Lotz M. Association of Bone and Joint Surgeons Workshop Supplement. Editorial Comment. *Clin Orthop* 2001; 391S: 2-5

O'Connor BL, Visco DM, Heck DA, Myers SL, Brandt KD. Gait alterations in dogs after transection of the anterior cruciate ligament. *Arthritis Rheum* 1989; 32: 1142-1147

Cooke TDV. Immune Pathology in Poliarticular Osteoarthritis. *Clin Orthop* 1986; 213: 41-49

Cooke TDV. Significance of Immune Complex Deposits in Osteoarthritic Cartilage. *J Rheumatol* 1987; suppl 14:77-79

Coster M, Chermant JL. Précis d'Analyse d'Images. Chapitre XII: Fractographie quantitative. Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS). Paris. 1985

Coutts RD, Woo SL, Amiel D, von Schroeder HP, Kwan MK. Rib perichondrial autografts in full-thickness cartilage defects in rabbits. *Clin Orthop* 1992; 275: 263-273

Craig FM, Bayliss MT, Bentley G, Archer ChW. A role for hyaluronan in joint development. *J Anat* 1990; 171: 17-23

Cramer P, Hochberg MC. Osteoarthritis. *Lancet* 1997; 350: 503-509

de Crombrughe, B.; Katzenstein, P.; Mukhopadhyay, K.; Lefebvre, V.; Zhou, G.; Garofalo, S.; Metsaranta, M.; Rosati, R.; Vuorio, E.: Transgenic mice with deficiencies in cartilage collagens: possible models for gene therapy. *J Rheumatol* 1995; Suppl 43: 140-142

Cruess RL. Cartilage repair (Editorial). *J Bone Joint Surg Br* 1971; 53B: 365

Cruess RL, Kwok DC, Duc PN, Lecavalier MA, Dang GT. The Response of Articular Cartilage to Weight-Bearing Against Metal. *J Bone Joint Surg Br* 1984; 66B: 592-597

Dekel S, Weisman SL. Joint changes after overuse and peak overloading of rabbit knees in vivo. *Acta Orthop Scand* 1978; 49: 519-528

Dingle JT. The role of lysosomal enzymes in skeletal tissues. *J Bone Joint Surg Br* 1973; 55B: 87-95

Donohue JM, Buss D, Oegema T, Thompson RC. The effects of indirect blount trauma on adult canine articular cartilage. *J Bone Joint Surg* 1983; 65A: 948-957

O'Driscoll SW. Current Concepts Review: The Healing and Regeneration of Articular Cartilage. *J Bone Joint Surg* 1998; 80-A, No. 12: 1795-1812

O'Driscoll Sh. Preclinical Cartilage Repair. Current Status and Future Perspectives. *Clin Orthop* 2001; 391S: 397-401

Dye SF. An evolutionary perspective of the knee. *J Bone Joint Surg* 1987; 69A: 976-983

Edwards RB III, Lu Y, Nho S, Cole BJ, Markel MM. Thermal Chondroplasty of Chondromalacic Human Cartilage. An Ex Vivo Comparison of Bipolar and Monopolar Radiofrequency Devices. *Am J Sports Med* 2002; 30: 90-97

Ehrlich MG, Armstrong AL, Tradwell BV, Mankin HJ. Degradative Enzyme Systems in Cartilage. *Clin Orthop* 1986; 213: 62-68

Ehrlich MG, Mankin. Biochemical changes in osteoarthritis. En: Nuki G. The Aetiopathogenesis of Osteoarthrosis. London: Pitman, 1980

Elliott R, Gardner DL. Changes with age in the glycosaminoglycans of human articular cartilage. *Ann Rheum Dis* 1979; 38: 371-377

Elves MW. A study of the transplantation antigens on chondrocytes from articular cartilage. *J Bone Joint Surg* 1974; 56A: 178-185

Escolà A, Alegre C, Obach J, Plans P, Asensi E: Risk Factors of Hand, Hip and Knee Osteoarthritis in Catalonia. *B J Rheumatol*, 1996; 35 (Suppl 1): 101

Evans CH, Ghivizzani SC, Smith P, Shuler FD, Mi Z, Robbins PD. Using Gene Therapy to Protect and Restore Cartilage. *Clin Orthop* 2000; 379S: 214-219

Evans CH, Mears DC, Stanitski CL. Ferrographic analysis of wear in human joints. Evaluation by comparison with arthroscopic examination of symptomatic knees. *J Bone Joint Surg* 1982; 64B(5): 572-578

Faig Garrober J. Artrosis fèmoro-rotuliana. Nuevo enfoque terapéutico. Tesis doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona. 1988

Fawthrop F, Yaquub R, Belcher C, Bayliss M, Ledingham J, Doherty M. Chondroitin and keratan sulphate epitopes, glycosaminoglycans, and hyaluronan in progressive versus non-progressive osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 1997; 56: 119-122

Ferguson AB. The Pathological Changes in Degenerative Arthritis of the Hip and Treatment by Rotational Osteotomy. *J Bone Joint Surg* 1964; 46A, No.6, 1337-1352

Ferrer-Roca O, Vilalta C. Regeneration of the articular cartilage. An experimental work. *Acta Orthop Belg* 1979; 45(1): 79-90

Fink B, Schneider T, Braunstein S, Schmielau G, Rùther W. Holmium:YAG Laser-Induced Aseptic Bone Necroses of the Femoral Condyle. *Arthroscopy*. 1996; 12(2): 217-223

Fischer DC, Haubeck HD, Eich K, Kolbe-Busch S, Stocker G, Stuhlsatz HW, Greiling H. A novel keratan sulphate domain preferentially expressed on the large aggregating proteoglycan from human articular cartilage is recognized by the monoclonal antibody 3D12/H7. *Biochem J* 1996; 318: 1051-1056

Fischer DC, Kolbe-Busch S, Stocker G, Hoffmann A, Haubeck HD. Development of enzyme immunoassays specific for keratan sulphate- and core-protein-epitopes of the large aggregating proteoglycan from human articular cartilage. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1994; 32(4): 285-291

Fisseler-Eckhoff A, Müller K-M. Arthroskopie und Chondrocalcinose. *Arthroskopie*. 1988; 1: 132-137

Franzén A, Heinegård D, Reiland LS, Olsson SE. Proteoglycans and calcification of cartilage in the femoral head epiphysis of the immature rat. *J Bone Joint Surg* 1982; 64A (4): 558-565

Freeman MAR. The Pathogenesis of Idiopathic ('Primary') Osteoarthritis: an Hypothesis. En: Nuki G. *The Aetiopathogenesis of Osteoarthritis*. London: Pitman, 1980

Freeman MAR. *Artritis y artrosis de la rodilla*. Barcelona: Salvat, 1982

Freemont AJ, Byers RJ, Taiwo YO, Hoyland JA. In situ zymographic localisation of type II collagen degrading activity in osteoarthritic human articular cartilage. *Ann Rheum Dis*. 1999; 58: 357- 365

Fukuda K, Ohtani K, Dan H, Tanaka S. Interleukin-1 inhibits keratan sulfate production by rabbit chondrocytes: Possible role of prostaglandin E2. *Inflamm Res* 1995; 44: 178-181

Fuller CJ, Barr AR, Sharif M, Dieppe PA. Cross-sectional comparison of synovial fluid biochemical markers in equine osteoarthritis and the correlation of these markers with articular cartilage damage. *Osteoarthritis Cartilage* 2001; 9: 49-55

Furukawa T, Eyre DR Koide S, Glimcher MJ. Biochemical Studies on Repair Cartilage Resurfacing Experimental Defects in the Rabbit Knee. *J Bone Joint Surg* 1980; 62A (1): 79-89

Gardner DL. Problems and paradigms in joint pathology. *J Anat* 1994; 184: 465-476

Garino JP, Lotke PA, Sapega AA, Reilly PJ, Esterhai JL. Osteonecrosis of the Knee Following Laser-Assisted Arthroscopic Surgery: A Report of Six Cases. *Arthroscopy*. 1995; 11(4): 467-474

Gerber BE, Asshauer T, Delacrétaz G, Jansen T, Oberthür T. Biophysikalische Grundlageuntersuchungen zur Wirkung der Holmium-Laserstrahlung am Knorpelgewebe und deren Konsequenzen für die klinische Applikationstechnik. *Orthopäde*. 1996; 25: 21-29

Gerber BE, Siebert WE. *Chirurgische Laseranwendung am Bewegungsapparat*. Orthopäde. 1996; 25: 1-2

Gerber B E, Zimmer M, Mathys D, Guggenheim R, Jundt G. Influence of Excimer-Laser Sealing on the Natural History of Early Osteoarthritis Induced by Experimental Roughening of Loaded Hyaline Cartilage. 1998. Unpublished

Ghadially FN, Ailsby RL, Oryschak AF. Scanning electron microscopy of superficial defects in articular cartilage. *Ann Rheum Dis* 1974; 33: 327-332

Ghadially FN, Thomas I, Oryschak AF, Lalonde J-M. Long-term results of superficial defects in articular cartilage: a scanning electron-microscope study. *J Path* 1977; 121:213-217

Ghosh P, Burkhardt D, Read R, Bellenger Ch. Recent Advances in Animal Models for Evaluating Chondroprotective Drugs. *J Rheumatol* 1991; 18: 143-146

Ghosh P, Holbert C, Read R, Armstrong S. Hyaluronic acid (hyaluronan) in experimental osteoarthritis. *J Rheumatol*. 1995; Suppl. 43: 155-157

Ghosh P, Sutherland J, Bellenger Ch, Read R, Darvodelsky A. The Influence of Weight-Bearing Exercise on Articular Cartilage of Meniscectomized Joints. *Clin Orthop* 1990; 252: 101-113

Glant TT, Mikecz K, Poole AR. Monoclonal antibodies to different protein-related epitopes of human articular cartilage proteoglycans. *Biochem J* 1986; 234: 31-41

Glant TT, Mikecz K, Roughley PJ, Buzás E, Poole AR. Age-related changes in protein-related epitopes of human articular-cartilage proteoglycans. *Biochem J* 1986; 236: 71-75

Goldwasser M, Astley T, van der Rest M, Glorieux FH. Analysis of the Type of collagen present in Osteoarthritic Human Cartilage. *Clin Orthop* 1982; 167: 296-302

Gomar-Sancho F, Gastaldi E. Repair of osteochondral defects in articular weightbearing areas in the rabbit's knee. *Int Orthop (SICOT)* 1987; 11: 65-69

Gómez Barrena E, Fernández Baillo N, Ordóñez Parra JM, Martínez Moreno E. La rodilla en el animal de experimentación. Morfología y cinemática comparadas y su aplicación a los modelos experimentales de rodilla. *Rev Ortop Traum* 1991; 35: 100-112

Grande DA, Breitbart AS, Mason HJ, Paulino C, Laser J, Schwartz RE. Cartilage Tissue Engineering: Current Limitations and Solutions. *Clin Orthop* 1999; 367S: 176-185

Green WT Jr. Articular Cartilage Repair. *Clin Orthop*. 1977; 124: 237-250

Grifka J. Arthroskopische Therapie der Gonarthrose in Abhängigkeit vom Grad der Chondromalazie. *Arthroskopie*. 1993; 6: 201-211

Hall MC. Cartilage changes after experimental immobilisation of the knee joints of the young rat. *J Bone Joint Surg* 1963; 45A: 36-44

Hamerman D, Rosemberg LC, Schubert M. Diarthrodial joints revisited. *J Bone Joint Surg* 1970; 52A: 725-774

Hangody L, Feczko P, Bartha L, Bodó G, Kish G. Mosaicplasty for the Treatment of Articular Defects of the Knee and Ankle. *Clin Orthop* 2001; 391S: 328-336

Hangody L, Sükösd L, Szabó Zs. La réparation cartilagineuse. Aspects techniques. *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot* 1999; 85: 846-857

Hardingham TE, Fosang AJ. The Structure of Aggrecan and its Turnover in Cartilage. *J Rheumatol Suppl* 1995; suppl 43, 22: 86-90

Haut RC, Ide TM, De Camp CE. Mechanical responses of the rabbit patello-femoral joint to blunt impact. *J Biomech Eng.* 1995; 117(4): 402-408

Hedlund H, Hedbom E, Heinegard D, Mengarelli-Widholm s, Reinholt FP, Svensson O. Association of the aggrecan keratan sulfate-rich region with collagen in bovine articular cartilage. *J Biol Chem* 1999; 274(9): 5777-5781

Heinegård D, Inerot S, Olsson S-T, Saxne T. Cartilage Proteoglycans in Degenerative Joint Disease. *J Rheumatol* 1987; suppl 14: 110-112

Hembry R, Dyce J, Driesang I, Hunziker E, Fosang A, Tyler J, Murphy G: Immunolocalization of Matrix Metalloproteinases in Partial-Thickness Defects in Pig Articular Cartilage: A Preliminary Report. *J Bone Joint Surg* 2001; 83A: 826-838

Hendrich C, Jakob P M, Breitling T, Schäfer A, Berden A, Haase A, Siebert WE. Kernspintomografische Messung der Temperaturverteilung in Knorpelgewebe nach Lasertherapie. *Orthopäde.* 1996; 25: 17-20

Hesse I, Mohr W, Hesse W. Morphologische Veränderungen in frühen Stadien der Arthrose. *Orthopäde.* 1990; 19:16-27

Hesse W, Reichelt I, Hesse I. Funktionsabhängige, präarthrotische und arthrotische Veränderungen der Ultrastuktur des Gelenkknorpels. *Akt Rheumatol.* 1981; 6: 21-30

Hille E. Arthroskopische Behandlung der Erkrankung des Patella-Femoral Gelenkes. *Arhtroskopie.* 1988; 1: 124-131

Hills BA. Synovial surfactant and the hydrophobic articular surface. *J Rheumatol* 1996; 23: 1323-1325

Homminga GN, Bulstra SK, Kuijer R, van der Linden AJ. Repair of sheep articular cartilage defects with a rabbit perichondrial graft. *Acta Orthop Scand* 1991; 62(5): 415-418

Homminga GN, van der Linden TJ, Terwindt-Rouwenhorst EAW, Drukker J. Repair of articular defects by perichondrial grafts: Experiments in the rabbit. *Acta Orthop Scand* 1989; 60(3): 326-329

Howell DS, Carreno MR, Pelletier J-P, Muniz OE. Articular cartilage Breakdown in a Lapine Model of Osteoarthritis. *Clin Orthop* 1986 213: 69-76

Hulth A, Lindberg L, Telhag H. Experimental osteoarthritis in rabbits. Preliminary report. *Acta Orthop Scand* 1970; 41: 522-530

Hunziker EB. Biologic Repair of Articular Cartilage. *Clin Orthop.* 1999; 367S: 135-146

Hunziker E B, Kapfinger E. Removal of proteoglycans from the surface of defects in articular cartilage transiently enhances coverage by repair cells. *J Bone Joint Surg.* 1998; B-80 (1): 144-150

Hunziker EB, Rosenberg LC. Repair of partial-thickness defects in articular cartilage: cell recruitment from the synovial membrane. *J Bone Joint Surg* 1996; A-78(5): 721-733

Imhoff AB, Martinek V. Gene Therapy in Cartilage Repair. En: Thorngren K-G, Soucacos PN, Horan F, Scott J. *European Instructional Course Lectures. Vol. 5. EFORT.* London. 2001

Ippolito E, Mariani PP. Aspectos ultraestructurales y bioquímicos de los estados preartrósicos y artrósicos de la rótula. *Rev Ortop Traum.* 1978; 22 IB: 11-26

Ismail S, Atkins RM, Pearse MF, Dieppe PA, Elson CJ. Susceptibility of normal and arthritic human articular cartilage to degradative stimuli. *Br J Rheumatol* 1992; 31: 369-373

Jacenko O, Olsen BR. Transgenic mouse models in studies of skeletal disorders. *J Rheumatol* 1995; Suppl. 43: 39-41

Jackson RW, Marans HJ, Silver RS. Arthroscopic treatment of degenerative arthritis of the knee. *J Bone Joint Surg* 1988; 70B: 332-336

Jackson DW, Lalor P, Aberman HM, Simon TM. Spontaneous Repair of Full-Thickness Defects of Articular Cartilage in a Goat Model: A Preliminary study. *J Bone Joint Surg Am* 2001; 83A: 53-64

Jaffe FF, Mankin HJ, Weiss C, Varins A. Water binding in the articular cartilage of rabbits. *J Bone Joint Surg* 1974; 56A: 1031

Janecki ChJ, Perry MW, Bonati AO, Bendel M. Safe Parameters for Laser Chondroplasty of the Knee. *Lasers Surg Med* 1998; 23: 141-150

Jeffery AK, Blunn GW, Archer CW, Bentley G. Three-dimensional collagen architecture in bovine articular cartilage. *J Bone Joint Surg* 1991; 73B: 795-801

Jimenez PA, Harlan PM, Chavarria AE, Haimes HB. Induction of osteoarthritis in guinea pigs by transection of the anterior cruciate ligament: Radiographic and histopathological changes. *Inflamm Res* 1995; 44 suppl 2: S129-S130

Johnson L L (1986): *Arthroscopic Surgery: Principles and Practice.* Ed. 3. Pp 225-234. Mosby

Johnson L L. Clinical Methods of Cartilage Repair. *Arthroscopic Abrasion Arthroplasty: A Review.* *Clin Orthop* 2001; 391S: 306-317

Johnston B, Yoo JU. Autologous Mesenchymal Progenitor Cells in Articular Cartilage Repair. *Clin Orthop* 1999; 367S: 156-162

Jones IL, Larsson S-E, Lemperg R. The glycosaminoglycans of Human Articular Cartilage. Concentration and Distribution in Different Layers in the Adult Individual. *Clin Orthop* 1977; 127: 257-264

Kaar TK, Fraher JP, Brady MP. A quantitative study of articular repair in the Guinea pig. *Clin Orthop* 1998; 346: 228-243

Karopoulos C, Rowley MJ, Ilic MZ, Handley CJ. Presence of antibodies to native G1 domain of aggrecan core protein in synovial fluids from patients with various joint diseases. *Arthritis Rheum* 1996; 39(12): 1990-1997

Kawamura S, Wakitani S, Kimura T, Maeda A, Caplan A I, Shino K, Ochi T. Articular cartilage repair. Rabbit experiments with a collagen gel-biomatrix and chondrocytes cultured in it. *Acta Orthop Scand* 1998; 69 (1): 56-62

Kempson G. Relationship between the tensile properties of articular cartilage from the human knee and age. *Ann Rheum Dis* 1982; 41: 508-511

Kempson, G: Propiedades mecánicas del cartílago articular y del hueso. A: Owen, R; Goodfellow, J; Bullough, P: Fundamentos científicos de Ortopedia y Traumatología. Salvat. Barcelona. 1984. pg. 53-62

Kim HK, Moran ME, Salter RB. The Potential for Regeneration of Articular Cartilage in Defects Created by Chondral Shaving and Subchondral Abrasion. An Experimental Investigation in Rabbits. *J Bone Joint Surg* 1991; 73-A: 1301-1315

Klein W. Die maschinelle arthroskopische Chirurgie der Gonarthrose. *Arthroskopie*. 1988; 1: 109-115

Krämer J. Arthroskopische Therapie der Arthrose. *Arthroskopie*. 1988; 1: 107-108

Kresina TF, Yoo JU, Goldberg VM. Evidence that a humoral immune response to autologous cartilage proteoglycan can participate in the induction of cartilage pathology. *Arthritis Rheum* 1988; 31 (2): 248-257

Lane, JM: Colágeno y elastina. A: Owen, R; Goodfellow, J; Bullough, P: Fundamentos científicos de Ortopedia y Traumatología. Salvat. Barcelona. 1984. pg. 32-38

Lane JG, Amiel ME, Monosov AZ, Amiel D. Matrix Assessment of the Articular Cartilage Surface After Chondroplasty With the Holmium:YAG Laser. *Am J Sports Med* 1997; 25:560-569

Lane LB, Bullough PG. Age-related changes in the thickness of the calcified zone and the number of tidemarks in adult human articular cartilage. *J Bone Joint Surg* 1980; 62B(4): 214-215

Lane LB, Villacin A, Bullough PG. The vascularity and remodelling of subchondral bone and calcified cartilage in adult human femoral and humeral heads. *J Bone Joint Surg Br* 1977; 59B: 272-278



Langer F. Immunogenicity of allograft articular cartilage. *J Bone Joint Surg* 1974; 56A: 297-304

Lapvetelainen T, Nevalainen T, Parkkinen JJ, Arokoski J., Kiraly K, Hyttinen M, Halonen P, Helminen HJ. Lifelong moderate running training increases the incidence and severity of osteoarthritis in the knee joint of C57BL mice. *Anat Rec* 1995; 242(2): 159-165

Ledingham J, Regan M, Jones A, Doherty M. Factors affecting radiographic progression of knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 1995; 54: 53-58

Lee DA, Salih V, Stockton EF, Stanton JS, Bentley G. Effect of Normal Synovial Fluid on the Metabolism of Articular Chondrocytes In Vitro. *Clin Orthop* 1997; 342: 228-238

Lee MCh, Sung P, Kurtis MS, Akeson WH, Sah RL. Adhesive Force of Chondrocytes to Cartilage. Effects of Chondroitinase ABC. *Clin Orthop* 2000; 370: 286-294

Lempert R: Can Articular Cartilage Heal?. 5: 49-67. A: Pickett JC, Radin EL: Chondromalacia of the Patella. Williams & Wilkins. Baltimore/London. 1983.

Lehninger AL: Bioquímica. Ed. Omega. Barcelona. 1985

Li KW, Williamson AK, Wang AS, Sah RL. Modulators of Cartilage Biology. Growth Responses of Cartilage to Static and Dynamic Compression. *Clin Orthop* 2001; 391S: 34-48

Li X, Haut RC, Altiero NJ. An analytical model to study blunt impact response of the rabbit P-F joint. *J Biomech Eng* 1995; 117(4):485-491

D'Lima DD, Colwell CW. Clinical Objectives for Cartilage Repair. *Clin Orthop* 2001; 391S: 402-405

D'Lima DD, Hashimoto S, Chen P, Colwell CWJr, Lotz MK. Impact of Mechanical Trauma on Matrix and Cells. *Clin Orthop* 2001; 391S: 90-99

Lind M. Growth factors: Possible new clinical tools. *Acta Orthop Scand* 1996; 67: 407-417

Little C.B, Ghosh P, Bellenger CR. Topographic variation in biglycan and decorin synthesis by articular cartilage in the early stages of osteoarthritis: an experimental study in sheep. *J Orthop Res* 1996; 14(3): 433-444

Loeuille D, Gonord P, Guingamp C, Gillet P, Blum A, Sauzade M, Netter P. In vitro magnetic resonance microimaging of experimental osteoarthritis in the rat knee joint. *J Rheumatol* 1997; 24(1): 133-139

Lohmander S. Articular cartilage and osteoarthrosis. The role of molecular markers to monitor breakdown, repair and disease. *J Anat* 1994; 184: 477-492

Lohmander S. The release of aggrecan fragments into synovial fluid after joint injury and in osteoarthritis. *J Rheumatol suppl* 1995; suppl 43, vol 22: 75-77

Lu Y, Hayashi K, Hecht P, Fanton GS, Thabit G III, Cooley AJ, Edwards RB, Markel MD. The effect of monopolar radiofrequency energy on partial-thickness defects of articular cartilage. *Arthroscopy* 2000; 16(5): 527-536

Lübbers C, Siebert WE. Die arthroskopische Holmium-YAG-Laseranwendung im Vergleich zu konventionellen Verfahren am Kniegelenk. *Orthopäde* 1996; 25: 64-72

McAlinden A, Dudhia J, Bolton MC, Lorenzo P, Heinegård D, Bayliss MT. Age-related changes in the synthesis and mRNA expression of decorin and aggrecan in human meniscus and articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* 2001; 9: 33-41

MacConaill MA. The Movements of Bones and Joints 4. The Mechanical Structure of Articulating Cartilage. *J Bone Joint Surg* 1951; 33B: 251-257.

McDevitt CA, Gilbertson E, Muir H. An experimental model of osteoarthritis; Early morphological and Biochemical changes. *J Bone Joint Surg* 1977; 59B (1): 24-35

McDevitt CA, Muir H. Biochemical changes in the cartilage of the knee in experimental and natural osteoarthritis in the dog. *J Bone Joint Surg* 1976; 58B(1): 94-101

McKenzie LS, Horsburgh BA, Ghosh P, Taylor TKF. Sulphated glycosaminoglycan synthesis in normal and osteoarthrotic hip cartilage. *Ann Rheum Dis* 1977; 36: 369-373

Malemud CJ, Goldberg VM. Synthesis of aggrecan core proteins by human cartilage and chondrocytes in vitro. *J Rheumatol suppl* 1995; 43: 91-93

Mandelbaum B, Browne JE, Fu F, Micheli L, Mosely JB, Erggelet C, Minas T, Peterson L. Current Concepts: Articular Cartilage Lesions of the Knee. *Am J Sports Med* 1998; 26: 853-861

Mankin HJ. Localization of tritiated thymidine in articular cartilage of rabbits. I.: Growth in immature cartilage. *J Bone Joint Surg* 1962; A-44: 682-688 (a)

Mankin HJ. Localization of tritiated thymidine in articular cartilage of rabbits. II.: Repair in immature cartilage. *J Bone Joint Surg* 1962; A-44: 688-698 (b)

Mankin HJ. Current Concepts Review. The Response of Articular Cartilage to Mechanical Injury. *J Bone Joint Surg* 1982; 64A(3): 460-466

Mankin HJ, Buckwalter JA. Restoring the osteoarthritic joint. *J Bone Joint Surg* 1996; 78: 1-2

Mankin HJ, Dorfman H, Lippiello L, Zarins A. Biochemical and Metabolic Abnormalities in Articular Cartilage from Osteo-Arthritic Human Hips. II Correlation of Morphology with Biochemical and Metabolic Data. *J Bone Joint Surg* 1971; 53-A: 523-537

Mankin HJ, Jennings LC, Treadwell BV, Trippel SB. Growth Factors and Articular Cartilage. *J Rheumatol suppl* 1991; suppl 27 vol 18: 66-67

Mankin HJ, Johnson ME, Lippiello L. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteoarthritic human hips. *J Bone Joint Surg* 1981; 63A(1): 131-139

Mankin HJ, Lippiello L. Biochemical and Metabolic Abnormalities in Articular Cartilage from Osteo-Arthritic Human Hips. *J Bone Joint Surg* 1970; 52-A: 424-434

Mankin HJ, Mow VC, Buckwalter JA, Iannotti JP, Ratcliffe A. Forma y Función del Cartilago Articular. En: *Ciencias Básicas en Ortopedia*. AAOS. Editado por Sheldon R. Simon. Medical Trens SL. Barcelona. 1997

Mankin HJ, Thrasher AZ. Water content and binding in normal and osteoarthritic human cartilage. *J Bone Joint Surg* 1975; 57A: 76-80

von der Mark K, Glückert K. Biochemische und molekularbiologische Aspekte zur Früherfassung humaner Arthrosen. *Orthopäde* 1990; 19: 2-15

von der Mark K, Kirsch T, Nerlich A, Kuss A, Weseloh G, Glückert K, Stöss H. Type X collagen synthesis in human osteoarthritic cartilage. *Arthritis Rheum* 1992; 35: 806-811

Maroudas A, Bullough P, Swanson SAV, Freeman MAR. The Permeability of Articular Cartilage. *J Bone Joint Surg* 1968; 50B: 166-177

Maroudas A, Venn M. Chemical composition and swelling of normal and osteoarthrotic femoral head cartilage. II. Swelling. *Ann Rheum Dis* 1977; 36: 399-406

Marshall WK, Chan AD. Bilateral canine model of osteoarthritis. *J Rheumatol* 1996; 23(2): 344-350

Mason JM, Breitbart A, Barcia M, Porti D, Pergolizzi RG, Grande DA. Cartilage and Bone Regeneration Using Gene-Enhanced Tissue Engineering. *Clin Orthop* 2000; 171-178

Matyas JR, Adams ME, Huang D, Sandell LJ. Discoordinate gene expression of aggrecan and type II collagen in experimental osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 420-425

Meachim G. The effect of scarification on articular cartilage in the rabbit. *J Bone Joint Surg* 1963; 45B: 150-161

Meachim G. Age Changes in articular Cartilage. *Clin Orthop*. 1969; 64: 33-44

Meachim G. Ways of Cartilage Breakdown in Human and Experimental Osteoarthrosis. En: Nuki G. *The Aetiopathogenesis of Osteoarthrosis*. London: Pitman, 1980

- Meachim G: Degeneración del cartílago. A: Owen, R; Goodfellow, J; Bullough, P: Fundamentos científicos de Ortopedia y Traumatología. Salvat. Barcelona. 1984. pg. 318-325
- Meachim G, Allibone R. Topographical variation in the calcified zone of upper femoral articular cartilage. *J Anat* 1984; 139: 341-352
- Meachim G, Roberts C. Repair of the joint surface from subarticular tissue in the rabbit knee. *J Anat* 1971; 109:317-327
- Merk HR. Knorpelersatz. Der Knorpelschaden – ein altes Problem – die Knorpel-Knochen-Transplantation – ein Erfolg versprechendes Therapieverfahren? *Arthroskopie* 2000; 13:93
- Milgram JW. Injury to Articular Cartilage Joint Surfaces. *Clin Orthop* 1985; 192: 168-173
- Milgram JW. Capítulo 3: The Structure of Adult Joints. En: Milgram JW. Radiologic and Histologic Pathology of Nontumorous Diseases of Bones and Joints. Northbrook (Illinois): Northbrook Publishing Company, Inc. 1990; pg. 29-32 (a)
- Milgram JW. Capítulo 24: Osteoarthritis (Degenerative Joint Disease). En: Milgram JW. Radiologic and Histologic Pathology of Nontumorous Diseases of Bones and Joints. Northbrook (Illinois): Northbrook Publishing Company, Inc. 1990; pg. 467-473 (b)
- Miralles RC, Puig M, Server F. Biomecánica del cartílago y de la cápsula articular. *Rev Ortop Trauma* 1997; 41:182-190
- Mitchell N, Lee ER, Shepard N. The Clones of Osteoarthritic Cartilage. *J Bone Joint Surg* 1992; 74-B: 33-38
- Mitchell N, Shepard N. The Resurfacing of Adult Rabbit Articular Cartilage by Multiple Perforations through the Subchondral Bone. *J Bone Joint Surg* 1976; A-58 : 230-233
- Moskowitz RW, Howell DS, Goldberg VM, Muniz O, Pita JC. Cartilage Proteoglycan Alterations in an Experimentally Induced Model of Rabbit Osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 1979; 22: 155-163
- Muir H, Bullough P, Maroudas A. The distribution of collagen in human articular cartilage with some of its physiological implications. *J Bone Joint Surg* 1970; 52B: 554-563
- Müller-Gerbl M, Schulte E, Putz R. The thickness of the calcified layer of articular cartilage: a function of the load supported? *J Anat* 1987; 154: 103-111
- Murray RC, Zhu CF, Goodship AE, Lakhani KH, Agrawal CM, Athanasiou. Exercise Affects the Mechanical Properties and Histological Appearance of Equine Articular Cartilage. *J Orthop Res* 1999; 17: 725-731

- Nakata, K; Bullough, PG. The Injury and Repair of Human Articular Cartilage: A Morphological Study of 192 Cases of Coxarthrosis. *J Jpn Orthop Ass* 1986; 60 (7): 57-69
- Nakahara H, Bruder SP, Goldberg VM, Caplan AI. In vivo osteochondrogenic potential of cultured cells derived from the periosteum. *Clin Orthop* 1990; 259:223-232
- Nakahara H, Goldberg VM, Caplan AI. Culture-expanded periosteal-derived cells exhibit osteochondrogenic potential in porous calcium phosphate ceramics in vivo. *Clin Orthop* 1992; 276:291-298
- Namba RS, Meuli M, Sullivan KM, Le AX, Adzick S. Spontaneous Repair of Superficial Defects in Articular Cartilage in a Fetal Lamb Model. *J Bone Joint Surg* 1998; 80-A: 4-10
- Nehrer S, Spector M, Minas T. Histologic Analysis of Tissue After Failed Cartilage Repair Procedures. *Clin Orthop* 1999; 365: 149-162
- Nelson BH, Anderson DD, Brand RA, Brown TD. Effect of osteochondral defects on articular cartilage. *Acta Orthop Scand* 1988; 59: 574-579
- Németh-Csóka M, Mészáros T. Minor collagens in arthrotic human cartilage. *Acta Orthop Scand* 1983; 54: 613-619
- Nixon AJ, Fortier LA, Williams J, Mohammed H. Enhanced Repair of Extensive Articular Defects by Insulin-like Growth Factor-I-laden Fibrin Composites. *J Orthop Res* 1999; 17: 475-487
- Nötzli H, Clark J. Deformation of Loaded Articular Cartilage Prepared for Scanning Electron Microscopy with Rapid Freeze-Substitution Fixation. *J Orthop Res* 1997; 15: 76-86
- Nuki G. The Aetiopathogenesis of Osteoarthritis. London: Pitman, 1980
- Odembring S, Egund N, Listrand A, Lohmander LS, Willen H. Cartilage regeneration after proximal tibial osteotomy for medial gonarthrosis. *Clin Orthop* 1992; 277: 210-216
- Ogata K, Whiteside LA, Lesker P. Subchondral route for nutrition to articular cartilage in the rabbit. *J Bone Joint Surg* 1978; 60A(7): 905-910
- Oleksyszyn J, Augustine AJ. Plasminogen modulation of IL-1-stimulated degradation in bovine and human articular cartilage explants. The role of the endogenous inhibitors: PAI-1, alpha 2-antiplasmin, alpha 1-PI, Alpha2-macroglobulin and TIMP. *Inflamm Res* 1996; 45(9): 464-472
- Outerbridge RE. The etiology of chondromalacia patellae. *J Bone Joint Surg* 1961; B-43: 752-767

Patwari P, Fay J, Cook MN, Badger AM, Kerin AJ, Lark MW, Grodzinsky AJ. In Vitro Models for Investigation of the Effects of Acute Mechanical Injury on Cartilage. *Clin Orthop* 2001; 391S: 61-71

Poole CA. Articular cartilage chondrons: form, function and failure. *J Anat* 1997; 191: 1-13

Poole AR, Kojima T, Yasuda T, Mwale F, Kobayashi M, Lavery Sh. Cartilage Biology. Composition and Structure of Articular Cartilage: A Template for Tissue Repair. *Clin Orthop* 2001; 391S: 26-33

Poussa M, Rubak J, Ritsilä V. Differentiation of the chondrogenic cells of the periosteum in chondrotrophic environment. *Acta Orthop Scand* 1981; 52: 235-239

Price JS, Till SH, Bickerstaff DR, Bayliss MT, Hollander AP. Degradation of Cartilage Type II Collagen Precedes the Onset of Osteoarthritis Following Anterior Cruciate Ligament Rupture. *Arthritis Rheum* 1999; 42(11): 2390-2398

Pridie KH. A method of resurfacing osteoarthritic knee joints. *J Bone Joint Surg* 1959 41: 618-619

Prockop DJ. Marrow Stromal Cells as Stem Cells for Nonhematopoietic Tissues. *Science* 1997; 276: 71-74

Pullin JG, Collier MA, Das P, Smith RL, DeBault LE, Johnson LL, Walls RC. Effects of Holmium:YAG Laser Energy on Cartilage Metabolism, Healing, and Biochemical Properties of Lesional and Perilesional Tissue in a Weight-Bearing Model. *Arthroscopy* 1996; 12: 15-25

Radin EL, Ehrlich MG, Chernac R, Abernethy P, Paul IL, Rose R. Effect of repetitive impulsive loading on the knee joint of rabbit. *Clin Orthop* 1978; 131: 288-293

Radin EL, Paul IL, Rose RM. Osteoarthrosis as a final common pathway. En: Nuki G. *The Aetiopathogenesis of Osteoarthrosis*. London: Pitman, 1980

Ramón R. Condromatía degenerativa de la rótula. *Rev Ortop Trauma* 1977; 21(3): 417

Raunest J, Sager M, Derra E. Experimentelle Befunde zur Knorpelablation und gepulsten UV-Lasern. *Arthroskopie* 1994; 7: 174

Redfern P. On the Healing of Wounds in Articular Cartilage. *Month J Med Sci (Edinburgh)*, 1851; 13: 201 reimpressió a *Clin Orthop* 1969 64:4-6

Redler J, Zimny ML. Scanning electron microscopy of normal and abnormal articular cartilage and synovium. *J Bone Joint Surg* 1970; 52A: 1395-1404

Rehak H-Ch, Hermann G, Schain FH. Pathophysiologie des Gelenkknorpels. *Deut Zeit Sportm* 1991; 42(7): 316-318

Reimann I. Experimental osteoarthritis of the knee in rabbits induced by alteration of the load-bearing. *Acta Orthop Scand* 1973; 44: 496-504

Reimann I, Christensen SB. A histological demonstration of nerves in subchondral bone. *Acta Orthop Scand* 1977; 48: 345 (a)

Reimann I, Mankin HJ, Trahan C. Quantitative histologic analyses of articular cartilage and subchondral bone from osteoarthritic and normal human hips. *Acta Orthop Scand* 1977; 48(1): 63-73 (b)

Repo RU, Finlay JB. Survival of articular cartilage after controlled impact. *J Bone Joint Surg* 1977; 59A: 1068-1076

Repo RU, Mitchell N. Collagen synthesis in mature articular cartilage of the rabbit. *J Bone Joint Surg Br* 1971; 53B: 541-548

Richardson JB, Caterson B, Evans EH, Ashton BA, Roberts S. Repair of human articular cartilage after implantation of autologous chondrocytes. *J Bone Joint Surg Br* 1999; 81(6): 1064-1068

Robinson D, Hasharoni A, Cohen N, Yayon A, Moskowitz RM, Nevo Z. Fibroblast Growth Factor Receptor-3 as a Marker for Precartilaginous Stem Cells. *Clin Orthop* 1999; 367S: 163-175

Rosenberg L. Use of Safranin-O in the Study of Articular Cartilage. *J Bone Joint Surg* 1971; 53-A:69

Rosenberg, LC: Proteoglycanos. A: Owen, R; Goodfellow, J; Bullough, P: Fundamentos científicos de Ortopedia y Traumatología. Salvat. Barcelona. 1984. pg. 39-45

Rosenthal A, Eichhorn J, Nitzschke E. Ergebnisse der arthroskopischen Chirurgie bei Gonarthrose. *Arthroskopie* 1998; 1: 116-123

Roth V, Mow VC. The intrinsic tensile behavior of the matrix of bovine articular cartilage and its variation with age. *J Bone Joint Surg* 1980; 62A (7): 1102-1117

Roughley PJ. Structural Changes in the Proteoglycans of Human Articular Cartilage during Aging. *J Rheumatol* 1987; suppl 14: 14-15

Roughley PJ. Age-Associated Changes in Cartilage Matrix: Implications for Tissue Repair. *Clin Orthop* 2001; 291S: 153-160

Roughley PJ, White RJ. Age-related Changes in the Structure of the Proteoglycan Subunits from Human Articular Cartilage. *J Biol Chem* 1980; 255: 217-224

Roughley PJ, White RJ. Dermatan sulphate proteoglycans of human articular cartilage. The properties of dermatan sulphate proteoglycans I and II. *Biochem J* 1989; 262: 823-827

Roughley PJ, White RJ, Mort JS. Presence of pro-forms of decorin and biglycan in human articular cartilage. *Biochem J* 1996; 318: 779-784

Roy S. Ultrastructure of articular cartilage in experimental immobilization. *Ann Rheum Dis* 1970; 29: 634-642

Rubak JM. Reconstruction of articular cartilage defects with free periosteal grafts. *Acta Orthop Scand* 1982; 53: 175-180 (a)

Rubak JM, Poussa M, Ritsilä VA. Chondrogenesis in repair of articular cartilage defects by free periosteal grafts in rabbits. *Acta Orthop Scand* 1982; 53: 181-186 (b)

Rubak JM, Poussa M, Ritsilä VA. Effects of joint motion on the repair of articular cartilage with free periosteal grafts. *Acta Orthop Scand* 1982; 53: 187-191 (c)

Rudert M, Wirth CJ. Knorpelregeneration und Knorpelersatz. *Orthopäde* 1998; 27: 309-321

Ryu J, Treadwell BV, Mankin H. Biochemical and metabolic abnormalities in normal and osteoarthritic human articular cartilage. *Arthritis Rheum* 1984; 27: 49-57

Salter DM, Millward-Sadler SJ, Nuki MB, Wright MO. Integrin-Interleukin-4 Mechanotransduction Pathways in Human Chondrocytes. *Clin Orthop* 2001; 391S: 49-60

Salter RB. The Biological Concept of Continuous Passive Motion of Synovial Joints. The First 18 Years of Basic Research and Its Clinical Application. *Clin Orthop* 1989; 242: 12-25

Salter, RB: Trastornos y lesiones del sistema musculoesquelético. 3ª edición. Barcelona: Masson, 2000

Salter RB, Moran ME, Kim H, Keeley F. Biological resurfacing of a major full-thickness defect in the joint surface of the patella under the influence of continuous passive motion: An experimental investigation in the rabbit. *J Bone Joint Surg* 1992; *Orthop Proc Supp* 74A: 146-147

Salter RB, Simmonds DF, Malcolm BW, Rumble EJ, McMichael D, Clements ND. The biological effect of continuous passive motion on the healing of full-thickness defects in articular cartilage. *J Bone Joint Surg* 1980; 62A(8): 1232-1251

Sampaio LO, Bayliss MT, Hardingham TE, Muir H. Dermatan sulphate proteoglycan from articular cartilage. Variation in its content with age and its structural comparison with a small chondroitin sulphate proteoglycan from pig laryngeal cartilage. *Biochem J* 1988; 254: 757-764

Sandy JD, Barrach H-J, Flannery CR, Plaas AHK. The Biosynthetic Response of the Mature Chondrocyte in Early Osteoarthritis. *J Rheumatol* 1987; suppl 14: 16-19



Schinagl RM, Gurskis D, Chen AC, Sah RL. Depth-Dependent Confined Compression Modulus of Full-Thickness Bovine Articular Cartilage. *J Orthop Res* 1997; 15: 499-506

Scott JE. Proteodermatan and proteokeratan sulfate (Decorin, Lumican/Fibromodulin) proteins are horseshoe shaped. Implications for their interactions with collagen. *Biochemistry* 1996; 35 (27): 8795-8799

Scully SP, Lee JW, Ghert MA, Qi W. The Role of the Extracellular Matrix in Articular Chondocyte Regulation. *Clin Orthop* 2001; 391S: 72-89

Sellers RS, Peluso D, Morris EA. The Effect of Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 (rhBMP-2) on the Healing of Full-Thickness Defects of Articular Cartilage. *J Bone Joint Surg Am* 1997; 79: 1452-1463

Shahgaldi BF, Amis AA, Heatley FW, McDowell J, Bentley G. Repair of cartilage lesions using biological implants. A comparative histological and biomechanical study in goats. *J Bone Joint Surg* 1991; 73B: 57-64

Shapiro F, Koido S, Glimoher MJ. Cell origin and differentiation in the repair of full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am* 1993; 75A: 532-553

Shepherd DET, Seedhom BB. Thickness of human articular cartilage in joints of the lower limb. *Ann Rheum Dis* 1999; 58 (1): 27-34

Sherk H. The use of Lasers in Orthopedic Procedures. *J Bone Joint Surg* 1993; A-75: 768

Siebert WE, Saunier J, Gerber BE, Lübbers C. / IMLAS Study Group "Lasers in Arthroscopic Surgery". *Ho: YAG-Laser in der arthroskopischen Chirurgie des Kniegelenks*. *Arthroskopie* 1994; 7:182

Smillie IS. *Enfermedades de la articulación de la rodilla*. Barcelona: JIMS, 1981

Sokoloff L. Osteoarthritis as a Remodeling Process. *J Rheumatol* 1987; suppl 14: 7-10

Solchaga L, Forriol F, Cañadell J. Efecto de la desalineación axial sobre el cartilago articular. Modelo experimental en corderos. *Mapfre Medicina* 1992; 3(2): 79-85

Solchaga L, Forriol F, Cañadell J. Réparation du cartilage articulaire par matériaux biologiques. Étude expérimentale sur le mouton. *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot* 1996; 82: 101-107

Stanescu R. Effects of enzymatic digestions on the negative charge of articular cartilage surfaces. *J Rheumatol* 1985; 12: 833-840

Stanescu R, Leibovich SJ. The Negative Charge of Articular Cartilage Surfaces. *J Bone Joint Surg* 1982; 64A(3): 388-398

Stockwell RA. The cell density of human articular and costal cartilage. *J Anat* 1967; 101: 753-763

Stockwell RA. The interrelationship of cell density and cartilage thickness in mammalian articular cartilage. *J Anat* 1971; 109: 411-421

Svenson L, Heinegård D, Oldberg Å. Decorin-binding sites for collagen type I are mainly located in Leucine-rich repeats 4-5. *J Biol. Chem* 1995; 270 (35): 20712-20716

Sweet MBE, Thonar J-MA, Immelman AR, Solomon L. Biochemical changes in progressive osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 1977; 36: 387-398

Tardif G, Pelletier JP, Dupuis M, Geng Ch, Cloutier JM, Martel-Pelletier J. Collagenase 3 production by human osteoarthritic chondrocytes in response to growth factors and cytokines is a function of the physiologic state of the cells. *Arthritis Rheum.* 1999; 42: 1147-1158

Tercedor J, Tercedor J, Acosta F. Tratamiento de la degeneración del cartilago articular rotuliano con la técnica de esponjalización. Estudio clínico y experimental. *Rev Ortop Traum* 1987; 31: 33-39

Teshima R, Nawata K, Hagino H, Morio Y, Inoue M, Irizawa Y. Effects of weight bearing on the tidemark and osteochondral junction of articular cartilage. *Acta Orthop Scand* 1999; 70(4): 381-386

Teshima R, Treadwell BV, Trahan CA, Mankin HJ. Comparative Rates of Proteoglycan Synthesis and Size of Proteoglycans in Normal and Osteoarthritic Chondrocytes. *Arthritis Rheum.* 1983; 26: 1225-1231

Tew SR, Kwan APL, Hann A, Thomson BM, Archer CW. The reactions of articular cartilage to experimental wounding. Role of apoptosis. *Arthritis Rheum.* 2000; 43: 215-225

Thal R, Danziger MB, Kelly A. Delayed Articular Cartilage Slough: Two Cases Resulting From Holmium:YAG Laser Damage to Normal Articular Cartilage and a Review of the Literature. *Arthroscopy* 1996; 12(1): 92-94

Thompson RC. An experimental study of surface injury to articular cartilage and enzyme responses within the joint. *Clin Orthop* 1975; 107: 239-248

Thompson RC, Oegema TRJr. Metabolic Activity of Articular Cartilage in Osteoarthritis. *J Bone Joint Surg* 1979; 61A: 407-416

Thompson, RC; Robinson, HJr. Current Concepts Review: Articular Cartilage Matrix Metabolism. *J Bone Joint Surg* 1981; 63A (2): 327-331

Tomatsu T, Takeuchi N, Takahashi K, Kimura N. Experimentally produced fractures of articular cartilage and bone. The effects of shear forces on the pig knee. *J Bone Joint Surg* 1992; 74B: 457-462

Trauner KB, Nishioka NS, Flotte T, Patel D. Acute and Chronic Response of Articular Cartilage to Holmium:YAG Laser Irradiation. *Clin Orthop* 1995; 310: 52-57

Treadwell BV, Mankin HJ. The Synthetic Processes of Articular Cartilage. Clin Orthop 1986; 213: 50-58

Treppo S, Koepp H, Quan EC, Cole AA, Kuettner KE, Grodzinsky AJ. Comparison of Biochemical and Biomechanical Properties of Cartilage from Human Knee and Ankle Pairs. J Orthop Res 2000; 18(5): 739-748

Trias A. Effect of Persistent Pressure on the Articular Cartilage. An Experimental Study. J Bone Joint Surg Br 1961; 43B: 376-386

Trippel SB, Ehrlich MG, Lippiello L, Mankin HJ. Characterization of Chondrocytes from Bovine Articular Cartilage. J Bone Joint Surg 1980; 62A: 816-820

Trott KR, Parker R, Seed MP. Die Wirkung von Röntgenstrahlen auf die experimentelle Arthritis der Ratte. Strahlenther Onkol. 1995; 171(9): 534-538 (abstract)

Trueta J. Studies of the Development and Decay of the Human Frame. London: Heinemann, 1968

Vangness Jr CT, Smith ChF, Marshall GJ, Sweeney JR, Johansen E. The Biological Effects of Carbon Dioxide Laser Surgery on Rabbit Articular Cartilage. Clin Orthop 1995; 310: 48-51

Vega JA, García-Suárez O. Regulación de la biología del cartílago articular normal y patológico por los factores de crecimiento. Rev Ortop Traum 2000; 3: 316-323

Venn MF. Variation of chemical composition with age in human femoral head cartilage. Ann Rheum Dis 1978; 37: 168-174

Venn MF. Chemical composition of human femoral head cartilage: influence of topographical position and fibrillation. Ann Rheum Dis 1979; 38: 57-62

Venn M, Maroudas A. Chemical composition and swelling of normal and osteoarthrotic femoral head cartilage. I. Chemical composition. Ann Rheum Dis 1977; 36:121-129

Verschure PJ, van Marle J, Joosten LAB, Helsen MMA, Labeber FPJG, van der Berg WB. Localization of Insulin-like Growth Factor-1 receptor in human normal and osteoarthrotic cartilage in relation to proteoglycan synthesis and content. Br J Rheumatol 1996; 35: 1044-1055

Vignon E, Arlot M, Hartman D, Moyen B, Ville G. Hypertrophic repair of articular cartilage in experimental osteoarthrosis. Ann Rheum Dis 1983; 42: 82-88

Vikkula M, Palotie A, Ritvaniemi P, Ott J, Ala-Kokko L, Sievers U, Aho K, Peltonen L. Early-onset osteoarthritis linked to the type II procollagen gene. Arthritis Rheum 1993; 36 (3): 401-409

Viladot Voegeli, A; Lorenzo, JC: La articulación. A: Viladot Voegeli, A y cols.: Lecciones básicas de biomecánica del aparato locomotor. Masson. Barcelona. 2001

Vilím V, Fosang A. Characterization of proteoglycans isolated from associative extracts of human articular cartilage. *Biochem J* 1993; 293: 165-172

Wakitani S, Goto T, Pineda S, Young R, Mansour J, Caplan A, et al. Mesenchymal cell-based repair of large, full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg* 1994; 76A: 579-592

Wakitani S, Imoto K, Kimura T, Ochi T, Matsumoto K, Nakamura T. Hepatocyte growth factor facilitates cartilage repair. *Acta Orthop Scand* 1997; 68(5): 474-480

Weiss C, Mirow S. An ultrastructural study of osteoarthritic changes in the articular cartilage of human knees. *J Bone Joint Surg* 1972; 54A 954-972

Weiss Ch, Rosenberg L, Helfet AJ. An ultrastructural study of normal young adult human articular cartilage. *J Bone Joint Surg* 1968; 50A: 663-674

Williams ChJ, Jimenez SA. Heritable Diseases of Cartilage Caused by Mutations in Collagen Genes. *J Rheumat* 1995; suppl 43, 22:28-32

Witsch-Prehm P, Miehle R, Kresse H. Presence of small proteoglycan fragments in normal and arthritic human cartilage. *Arthritis Rheum* 1992; 35: 1042-1052

Wittenberg H-R, Müller K-M. Untersuchungen über das Schneideverhalten von Knorpelfräsen bei Gonarthrose. *Arthroskopie*. 1998; 1: 138-142

Yoo JU, Barthel TS, Nishimura K, Solchaga L, Caplan AI, Goldberg VM, Johnstone B. The Chondrogenic Potential of Human Bone-Marrow-Derived Mesenchymal Progenitor Cells. *J Bone Joint Surg* 1998; 80(A): 1745-1757

Yoo JU, Mandell I, Angele P, Johnstone B. Chondrogenitor Cells and Gene Therapy. *Clin Orthop* 2000; 379S: 164-170

Yoshida K, Azuma H. Contents and compositions of glycosaminoglycans in different sites of the human hip joint cartilage. *Ann Rheum Dis* 1982; 41: 512-519

Zarnett R, Delaney JP, O'Driscoll SW. Cellular origin and evolution of neochondrogenesis in major full-thickness defects of a joint surface treated by free autogenous periosteal grafts and subjected to continuous passive motion in rabbits. *Clin Orthop* 1987; 222: 267-274