

”CAMBIOS ESTRUCTURALES Y ULTRAESTRUCTURALES EN EL CARTÍLAGO FRENTE A LA MODULACIÓN DEL ÓXIDO NÍTRICO Y LA UTILIZACIÓN DE FACTORES DE CRECIMIENTO”

AUTORES: Med. Fernando Javier Locaso, Dr. C. Fabian Loidl.

COLABORADORES: Med. Arnoldo Albero, Med. Edgardo Locaso

INTRODUCCIÓN:

La patología del cartílago articular es frecuente en la traumatología, por eso es de nuestro interés dilucidar e investigar la ultraestructura y estructura de la lesión, la reparación de este tejido, con el fin de conseguir avances clínicos en la evolución de estas lesiones frecuentes. Los traumatismos, las lesiones por sobreuso y sobrecarga producen alteraciones en el cartílago, cuyos mecanismos de producción y reparación no han sido aún bien estudiados. El conocimiento de los mismos podría ser de gran aporte para evaluar si la aplicación de factores de crecimiento y el estudio de la modulación del óxido nítrico pueden tener una proyección terapéutica.

Existen pocos trabajos que reportan el valor del óxido nítrico y los factores de crecimiento en el desarrollo y la reparación de estas lesiones, y debido al costo económico que provoca la abundancia de estas lesiones a los sistemas de salud, y las secuelas que provocan con el desarrollo tórpido y los tratamientos equívocos que se realizan hoy en día, es importante el estudio y mejora de su evolución para el bienestar del paciente y para disminuir el tiempo de regreso a la actividad laboral que el paciente ejercía.

Abstract

The pathology of articular cartilage is frequent in traumatology, so it is in our interest to find out ultrastructure and structure of the injury, the repair of this tissue, with the purpose of achieving clinics advances in the evolution in these frequent injuries.

There are few works that report the values of nitric oxide and grown factors on the development and repair of these injuries.

Full knowledge of these studies could be a great contribution in order to evaluate if the application of the grown factors and the study of nitric oxide modulation could have a therapeutic projection.

Objetives:

1. To study the location of nNOs, iNOs, NADPH-d, in the cartilage on optical and electronic levels.
2. Assess their modifications on the acute injury and subacute
3. Evaluate possible therapeutic strategies by using inhibitors of the liberation of the nitric oxide and grown factors.
4. Project the obtained results from the animal studies.

We have worked with grown factors like TGFB, IFG1, FGDP, BMPs, inhibitors of liberation IL-1 y TNF, antibodies for iNOs, nNOs, histochemical techniques for ac. NADPH-d y NitroTyr. 32 albinas Sprague Dawley rats.

OBJETIVOS:

- 1- Estudiar la localización de nNOs, iNOs, NADPH-d, en el cartílago a nivel óptico y electrónico.
- 2- Cuantificar sus modificaciones en la lesión aguda (4 a 24 hs. Post lesión) y subaguda (2-6 meses).
- 3- Evaluar posibles estrategias terapéuticas, utilizando inhibidores de la liberación de óxido

nítrico y factores de crecimiento.

4- Proyectar clínicamente los resultados obtenidos en los estudios en animales.

MATERIALES Y MÉTODOS:

-Se trabajo con factores de crecimiento como TGFB, IFG1, FGDP, BMPs.

-Inhibidores de la liberación de IL-1 y TNF.

-Inmunocitoquímica con anticuerpos para iNOs, nNOs y con técnicas histoquímica para ac. NADPH-d y NitroTyr.

-Utilización de microscopía óptica y electrónica.

-32 Ratas albinas adultas Sprague Dawley.

RESULTADOS:

Como resultado de los 30 animales estudiados (2 fallecieron en la inducción anestésica se observo:

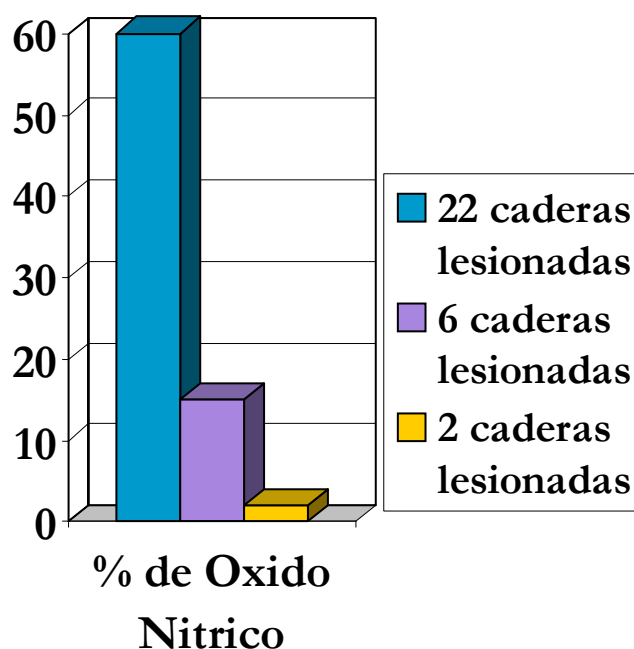
- Un aumento importante (un 60 % mas que el control) en la localización de oxido nítrico en el cartílago articular en 22 ratas con patología provocada de este tejido.

- En 6 animales hubo un aumento poco significativo, (entre un 5 y un 15% con respecto al control).

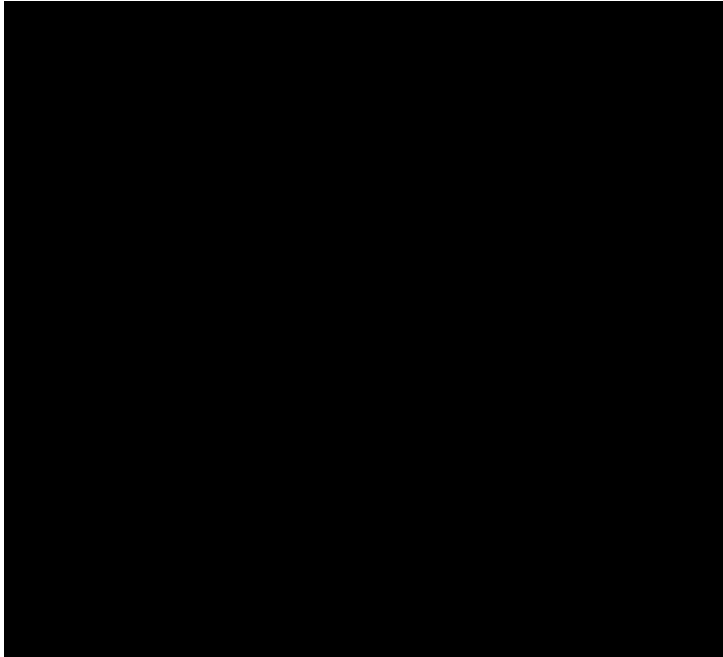
- En las dos restantes no se obtuvieron cambios apreciables con respecto al control.

- El uso de factores de crecimiento mostró una disminución de la expresión de oxido nítrico con respecto a las ratas en las que no lo usamos.

Caderas lesionadas sin FC vs. Expresión de oxido nitrico *Cuantificado con el programa Kontros- Vidas y Scion Image.



Caderas lesionadas sin FC vs. Caderas lesionadas con FC*Cuantificado con el programa Kontros- Vidas y Scion Image.



CONCLUSIONES:

Es de suma importancia el papel que cumple el óxido nítrico en la modulación de las lesiones agudas y crónicas del cartílago, por eso creemos que la aplicación de inhibidores de la liberación de esta molécula, así como los factores de crecimiento utilizados en la fase pre-clínica pueden ser el futuro en la terapéutica de estas lesiones.

Aunque todavía no hay estudios certeros que indiquen cuanto y como pueden mejorar estos factores la evolución de las lesiones del cartílago, y que riesgos pueden ocurrir en cuanto a factores virales e inmunológicos, creemos que pueden ser de utilidad en el futuro para el tratamiento de las lesiones agudas del cartílago articular.

BIBLIOGRAFIA:

1. AMIEL D, COUTTS RD, ABEL M, STEWART W, HARWOOD F, AKESON WH. Rib perichondrial grafts for the repair of full-thickness articular-cartilage defects. *J. Bone Joint Surg. (Am)* 1985 ; 67: 911-920.
2. ANNALS OF THE RHEUMATIC DISEASES (ANN RHEUM DIS 2002; 61: 870-876)
La actuación conjunta de la interleukina 17 y el factor de necrosis tumoral es la causa principal en la destrucción del cartílago.
3. BILLINGS E, von SCHROEDER HP, MAI MT, ARATOW M, AMIEL D, WOO SL, COUTTS RD. Cartilage resurfacing of the rabbit knee. The use of an allogeneic demineralized bone matrix-autogenic perichondrium composite implant. *Acta Orthop. Scand.* 1990; 61(3): 201-206.
4. CEBAMANOS 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. Universidad Autónoma de Barcelona. 1993.
5. Cebamanos Celma J. Avances en los procesos de reparación de las lesiones del cartílago articular. Servicio de traumatología y ortopedia, Hospital del Mar, Barcelona. 2005.

6. COUTTS RD, AMIEL D, WOO SL, WOO Y, AKESON WH. Technical aspects of perichondrial grafting in the rabbit. *Eur. surg. Res.* 1984; 16: 322-328.
7. COUTTS RD, WOO SL, AMIEL D, von SCHROEDER HP, KWAN MK. Rib perichondrial autografts in full-thickness articular cartilage defects in rabbits. *Clin. Orthop.* 1992; 275: 263-273.
8. de la CAFFINIÈRE JY, MARTIN E, HUMBEL R, KONSBRUCK R. Rôle de l'épaisseur des greffons dans l'autotransplantation ostéocartilagineuse du genou chez le lapin. *Int. Orthop. (SICOT)* 1982; 6: 1525.
9. DELANEY JP, O' DRISCOLL SW, SALTER RB. Neochondrogenesis in free intraarticular periosteal autografts in an immobilized and paralyzed limb. An experimental investigation in the rabbit. *Clin. Orthop.* 1989;248: 278-282.
10. DUHAMEL H. Sur le développement et la crue des os des animaux. *Histoire et Mémoires de l'Acad* 42; 2: 491-Citado por Rubak 1982a.
11. GOLDBERG VM, PORTER BB, ENGLAND D, LANCE EM. Transplantation of the Canine Knee Joint on a Vascular Pedicle. *J. Bone Joint Surg. (Am)* 1980; 62: 414-424.
12. GOMAR-SANCHO F, GASTALDI E. Injerto de fibrocartilago meniscal en los defectos osteocondrales. Estudio experimental. *Rev. Esp. Cir. Ost.* 1986; 21: 97-103. (a)
13. GOMAR-SANCHO F, GASTALDI E. Efecto del legrado y esponjialización de la superficie articular en el conejo, Estudio Experimental. *Rev. Esp. Cir. Ost.* 1986; 21: 171-178. (b)
14. 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.
15. GOSHIMA J, GOLDBERG VM, CAPLAN AL. The osteogenic potential of culture-expanded rat marrow mesenchymal cells assayed in vivo in calcium phosphate ceramic blocks. *Clin. Orthop.* 1991; 262: 298-311.
16. HAM AW. *Tratado de Histologia. Ia. Ed. Madrid. Editora Importecnica, S.A. 1954 (7a. ed. 1975) pp.357-362.*
17. HASHIMOTO SANSHIRO AND COLS, Expresión FAS/FAS ligando e inducción de apoptosis en condrocitos. *Arthritis and Rheumatism* 1997, 40 (10):1749-1755.
18. HEATLEY FW, REVELL WJ. Meniscal fibrocartilage as an arthroplasty material: An experimental study. *J. Bone Joint Surg. (Br)* 1982; 64: 249-250.
19. HOMMINGA GN, VANDER LINDEN TJ, TERWINDT-ROUWENHORST EAW. Repair of articular defects by perichondrial grafts: Experiments in the rabbit. *Acta Orthop. Scand.* 1989; 60 (3): 326-329.
20. HOMMINGA GN, BULSTRA SE, KUIJER R VAN DER LINDEN AJ. Repair of sheep articular cartilage defects with a rabbit costal perichondrial graft. *Acta Orthop. Scand.* 1991; 62 (5): 415-418
21. HVID I, ANDERSEN LI. Perichondrial autograft in traumatic chondromalacia patellae. Report of a case. *Acta Orthop. Scand.* 1981;52: 91-93
22. ITAY S, ABRAMOVICI A, NEVO Z. Use of cultured embrional chick epiphiseal chondrocytes as grafts for defects in chick articular cartilage. *Clin. Orthop.*1987; 124: 237-250.
23. JAROMA HJ, RITSIL VA. Reconstruction of patellar cartilage defects with free periosteal grafts. An experimental study. *Scand. J. Plast. Reconst. Surg.* 1987; 21(2): 175-181.
24. JAROMA HK, RITSILÄ VA. Differentiation of periosteal cells in muscle. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.* 1988; 22: 193-198. (a)

25. JAROMA HK, RITSILÄ VA. Effect of diffusion chamber pore size on differentiation and proliferation of periosteal cells. *Clin. Orthop.* 1988; 236:258-264. (b)
26. JOHANSSON SH, ENGVIST O. Small joint reconstruction by perichondrial arthroplasty. *Clin. Plast. Surg.* 1981; 8 (1): 107-114.
27. KIM HKW, MORAN ME, SALTER RB. The potential for regeneration of articular cartilage in defects created by chondral shaving and subchondral abrasion. *J. Bone Joint Surg. (Am)* 1991; 73: 1301-1315.
28. KORKALA OL. Periosteal primary resurfacing of joint surface defects of the patella due to injury. *Injury* 1988; 19(3):216-218.
29. KORKALA OL, KUOKKANEN H. Autogenous osteoperiosteal grafts in the reconstruction of fullthickness joint surface defects. *Int. Orthop. (SICOT)* 1991;15: 233-237.
30. KREDER HJ, SALTER RB, KEELEY FW. Cryopreservation of rabbit periosteum for transplantation. *Trans. Orthop. Res. Soc.* 1988; 13: 113.
31. KRISTENSEN KD, KIAER T, BLICHER J. No arthrosis of the ankle 20 years after malaligned tibial shaft fractures. *Acta Orthop. Scand.* 1989; 60: 208-209.
32. LEXER E. Substitution of whole or half joints freshly amputated extremities by free plastic operation. *Surg. Gynec. Obstet.* 1908; 6: 601-607. Citado por Lane 1977.
33. MANKIN HJ. Localization of tritiated thymidine in articular cartilage of rabbits. II.
34. MANKIN HJ. The response of articular cartilage to mechanical injury. *J Bone Joint Surg (Am)* 1982; 64: 460-466.
35. MARTIN JA, GOMAR-SANCHO F, del PINO JM, RIBES J. Fibrocartilago meniscal como biomaterial de sustitución en los defectos osteocondrales. 1, Injertos homólogos. Estudio experimental. *Rev. Esp. Cir. Ost.* 1990; 25: 299-316.
36. MARTIN JA, GOMAR-SANCHO F, GASTALDI E. Fibrocartilago meniscal como biomaterial de sustitución en los defectos osteocondrales: injertos heterólogos, en fresco y conservados. Metodología de conservación de injertos meniscales. *Rev. Esp. Cir. Ost.* 1991; 26: 19-31.
37. MERCHANT TC, DIETZ FR. Long-term follow-up after fractures on the tibial and fibular shafts. *J. Bone J Surg. (Am)* 1989; 71: 599-606.
38. MITCHELL N, SHEPARD N. Healing of articular cartilage in infra-articular fractures in rabbits. *J. Bone Joint Surg. (Am)* 1980; 62: 628-634.
39. MONCADA SALVADOR. Oxido nítrico. Instituto Wolfson de investigación biomédica, Londres.
40. MORAN ME, KIM HKW, SALTER RB. Biological resurfacing of full-thickness defects in patellar articular cartilage of the rabbit. Investigation of autogenous periosteal grafts subjected to continuous passive motion. *J. Bone Joint Surg. (Br)* 1992; 74: 659-667.
41. MOW VC, RATCLIFFE A, ROSENWASSER MP, BUCKWALTER JA. Experimental studies on repair large osteochondral defects at a high weight area of the knee joint: A tissue engineering study. *J. Biomech. Eng.* 1991; 113: 198-207.
42. 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.
43. NAKAHARA H, DENNIS JE, BRUDER SP, HAYNESWORTH SE, LENNON DP, CAPLAN AI. In vitro differentiation of bone and hypertrophic cartilage from periosteal-derived cells. *Exp. Cell. Res.* 1991;195:492-503.
44. 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.
45. NELSON BH, ANDERSON DD, BRAND RA, BROWN TD. Effect of osteochondral defects on articular cartilage. Acta Orthop. Scand. 1988; 59: 574-579.
 46. NIEDERMANN B, BOE S, LAURITZEN J, RUBAK JM. Glued periosteal grafts in the knee. Acta Orthop. Scand. 1985; 56: 457-460.
 47. 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.
 48. O' DRISCOLL SW, SALTER RB. The induction of neocondrogenesis in free intra-articular periosteal autografts under the influence of continuous passive motion. An experimental investigation in the rabbit. J. Bone Joint Surg. (Am) 1984; 66: 1248-1257.
 49. O' DRISCOLL SW, SALTER RB. The repair of major osteochondral defects in joints surfaces by neocondrogenesis with autogenous osteoperiosteal grafts stimulated by continuous passive motion. Clin. Orthop. 1986; 208: 131-140. (a)
 50. O' DRISCOLL SW, KEELEY FW, SALTER RB. The chondrogenic potential of free autogenous periosteal grafts for biological resurfacing of major full-thickness defects in joints surfaces under the influence of continuous passive motion. An experimental investigation in the rabbit. J. Bone Joint Surg. (Am) 1986; 68:1017-1034.(b)
 51. O' DRISCOLL SW, KEELEY FW, SALTER RB. Durability of regenerated articular cartilage produced by free autogenous periosteal grafts in major full-thickness defects in joints surfaces under the influence of continuous passive motion. A follow-up report at one year. J. Bone Joint Surg. (Am) 1988; 70: 595-606.
 52. OHLSEN L, WIDENFALK B. The early development of articular cartilage after perichondrial grafting. Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. 1983; 17: 163-177.
 53. OLSEN EB, TRIER K, JORGENSEN B, BROK KE, AMMITZBOLL T. The effect of hyaluronic acid on cartilage in the immobilized rabbit. Acta Orthop. Scand. 1991; 62: 323-326.
 54. POUSSA M, RUBAK J, RITSILÄ V. Differentiation of the chondrogenic cells of the periosteum in chondrotrophic environment. Acta Orthop. Scand. 1981; 52: 235-239.
 55. PRIDIE KH. A method of resurfacing osteoarthritic knee joints. J. Bone Joint Surg. (Br) 1959; 41: 618-619.
 56. REDDI AH. Extracellular bone matrix dependent local induction of cartilage and bone. J. Rheumatol. 1983; 10 (suppl 11): 67-69.
 57. RUBAK JM. Reconstruction of articular cartilage defects with free periosteal grafts. Acta Orthop. Scand. 1982; 53: 175-180.(a)
 58. 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)
 59. RUBAK JM. Effects of joint motion on the repair of articular cartilage with free periosteal grafts. Acta Orthop Scand. 1982; 53:187-192.(c)
 60. RUBAK JM. Osteochondrogenesis of free periosteal grafts in the rabbit iliac crest. Acta Orthop. Scand. 1983; 54: 826-831.
 61. SALTER RB, SIMMONDS DF, MALCOLM BW, RUNBLE EJ. The biological effect of continuous passive motion on the healing of full-thickness defects in the articular cartilage. J. Bone Joint Surg. (Am) 1980; 62: 1232-1251.
 62. SALTER RB. Motion versus rest: Why immobilise joints? J. Bone Joint Surg. (Br) 1982;

64 (2): 251254.

63. SALTER RB. The biological concept of continuous passive motion. The first 18 years of basic research and its clinical application. Clin. Orthop. 1989; 242: 12-25.

64. 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 (Br) 1992; 74: Orthop. Proc. Supp II: 146-147.

65. SCHMID A, SCHMID F. Results after cartilage shaving studied by electron microscopy. Am. J. Sports Med. 1987; 15:386-387.

66. SERADGE H, KUTZ JA, KLEINERT HE, LISTER GD, WOLFF TW, ATASOY E. Perichondrial resurfacing arthroplasty in the hand. J. Hand Surg. (Am) 1984; 9 (6): 880-886.

67. SHAGALDI 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 (Br) 1991; 73: 57-64.

68. 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.

69. TERCEDOR J, TERCEDOR J, ACOSTA F. Tratamiento de la degeneración del cartilago articular rotuliano con la técnica de espongiolización. Estudio clínico y experimental. Rev. Ortop. Traum. 1987; 31: 33-39.

70. TIZZONI G. Sulla istologia normale e patologica delle cartilagine ialine. Arch. sci. med. 1878; 12: 27102. Citado por Amiel 1985.

71. VACHON AM, McILWRAITH CW, TROTTER GW, NORRDIN RW, POWERS BE. Neochondrogenesis in free intra-articular, periosteal, and perichondrial autografts in horses. Am. J. Vet. Res. 1989;50 (10):1787-1794.

72. VACHON AM, McILWRAITH CW, TROTTER GW, NORRDIN RW, POWERS BE. Morphologic study of induced osteochondral defects of the distal portion of the radial carpal bone in horses by use of glued periosteal autografts. Am. J. Vet. Res. 1991; 52 (2): 317-327

73. VACHON AM, McILWRAITH CW, KEELEY FW. Biochemical study of repair of induced osteochondral defects of the distal portion of the radial carpal bone in horses by use of periosteal grafts. Am. J. Vet. Res. 1991;52(2):328-332.

74. WAKITANI S, KIMURA T, HIROOKA A, OCHI T, YONEDA M, YASUI N, OWAKI H, ONO K. Repair of rabbits articular cartilage surfaces with allograft chondrocytes embedded in collagen gel. J. Bone Joint Surg. (Br) 1989; 71: 74-80.

75. WIDENFALK B, ENKVIST O, OHLSEN L, SEGERSTRÖM K. Perichondrial arthroplasty using fibrin glue and early mobilization. An experimental study. Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. 1986; 20(3): 251-258.

76. WOO SL, KWAN MK, LEE TQ, FIELD FP, KLEINER JB, COUTTS RD. Perichondrial autograft for articular cartilage. Shear modulus of neocartilage studied in rabbits. Acta Orthop. Scand. 1987; 58: 510-515.

77. 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.

78. ZARNETT R, SALTER RB. Periosteal neochondrogenesis for biologically resurfacing joints: Its cellular origin. C.J.S. 1989; 32(3): 171-174.