

## ***Sección IV. Investigación y Ciencias Básicas***

# **Efectos del Acido Hialurónico en la Cicatrización de Lesiones del Cartílago Articular en la Rodilla del Conejo**

\*Dr. Germán Alberto Ochoa Perea, \*\*Dr. Alvaro Jose Lombana Zapata, \*\*\*Dr. José Ignacio Zapata Sánchez

### **Introducción**

El aumento en la frecuencia de lesiones del cartílago articular de cualquier etiología, la dificultad en su manejo, asociado a un conocimiento limitado de la reparación del cartílago conllevan a una gran disfunción, principalmente en las articulaciones de soporte corporal.

Es reconocido que varias entidades ocasionan efectos deletéreos sobre el cartílago articular produciendo cambios osteoartrosicos irreversibles con pocas opciones terapéuticas.

En la literatura anglosajona están reportados resultados de estudios clínico-experimentales, donde se observa mejoría funcional en alteraciones agudas y crónicas de pequeñas y medianas articulaciones en equinos, utilizando la infusión intraarticular de Hialuronidato sódico. Estos hallazgos de mejoría funcional están descritos como estadísticamente significativos.<sup>7</sup>

Esta sustancia ha venido siendo utilizada en los últimos años en la especie humana, con resultados muy alentadores en lesiones condrales de la rodilla. Sin embargo no existen reportes en la literatura sobre los efectos histológicos del Acido hialurónico en las diferentes estructuras intraarticulares. Motivados por los resultados clínicos de diversos autores, decidimos realizar un estudio sobre los efectos histológicos de dicha sustancia sobre las lesiones condrales en las rodillas de conejos.

### **Generalidades del Cartílago Articular**

El cartílago hialino, proveniente etimológicamente del griego Hyalos = vidrio, y del latín cartilago, es una estructura avascular y

amielínica con una abundante y homogénea matriz, cuya característica macroscópica en personas jóvenes es la de ser translúcido y blanquecino, mientras que en la población mayor se torna opaco y amarillo.<sup>1</sup>

El cartílago articular está dividido histológicamente en distintas zonas, dependiendo de la morfología y distribución celular, siendo la zona más superficial la lámina esplendente, a la cual se le atribuye una función importante en la lubricación del cartílago articular. Es una fina capa de colágeno densa de distribución paralela a la superficie articular que no supera los 10 nm. de espesor. Inmediatamente por debajo de la anterior se encuentra la zona de deslizamiento, donde las células se encuentran elongadas y de distribución tangencial a la superficie articular. La siguiente zona en profundidad es la transicional, cuyos condrocitos son más redondeados, y con una distribución al azar. Por debajo de la zona transicional se encuentra la zona radial, donde los condrocitos se encuentran distribuidos en columnas cortas; y la zona más profunda es la calcificada, con células pequeñas con mayor pigmentación. (Figura 1) Sus principales características son las de poseer una superficie suave, lisa, deslizante, que facilitan el movimiento evitando la erosión. Además de la flexibilidad para adaptarse a cambios de presión y cargas. Su fricción permite la distribución homogénea de las cargas; su elasticidad permite amortiguar y disipar la energía en forma gradual.<sup>14</sup>

La mezcla de las fibras colágenas y del gel hidratado de glucoproteínas, le confiere las excelentes propiedades de elasticidad, duración, resistencia y deslizamiento. Las fibras colágenas tienen una distribución arciforme, sus fibras son largas y delgadas, actúan como una unidad resistiendo la tracción y soportando la presión. La orientación de las fibras colágenas en la matriz cartilaginosa es de predominio vertical, mientras que en la superficie cartilaginosa la orientación de las fibras es horizontal.<sup>1</sup> Existe un segundo siste-

\*Residente IV. Traumatología y Ortopedia Colegio Mayor de Nuestra Señora del Rosario

\*\*Residente III. Traumatología y Ortopedia Universidad Militar Nueva Granada

\*\*\*Profesor Traumatología y Ortopedia Instituto Franklin Delano Roosevelt

ma de fibras colágenas de refuerzo, el cual protege a la estructura colágena cuando es sometida a la compresión axial.<sup>1</sup>

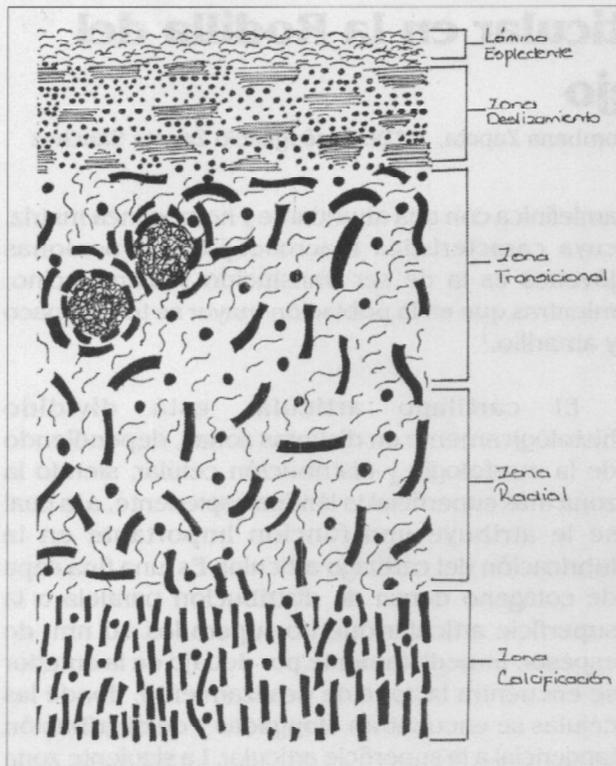


Figura No. 1 Cartilago Articular

Rodeando las fibras colágenas se encuentran las moléculas de proteoglicanos hidratadas, de consistencia viscosa y pegajosa, que resisten poco la tracción pero mucho la presión. La superficie del cartilago articular es lisa con algunas ondulaciones las cuales acogen el líquido sinovial, facilitando la lubricación de la superficie articular.<sup>6</sup> Su espesor varía de una articulación a otra, incluso en una misma superficie articular. En general es más gruesa en la periferia de las superficies articulares cóncavas, y en la porción articular central de las superficies convexas. La base del cartilago articular está en contacto con la última lámina del hueso subcondral, sin existir continuidad estructural entre ellas.<sup>14</sup> La distribución de las moléculas de proteoglicanos es variable de una articulación a otra, incluso en zonas de un mismo cartilago. Las capas superficiales del cartilago contienen menos proteoglicanos en comparación con las profundas, su distribución es más difusa en los niños que en los adultos.<sup>11</sup>

Las macromoléculas de proteoglicano están conformadas por un núcleo de ácido hialurónico con cadenas protéicas laterales rodeadas por tres

tipos de mucopolisacáridos como son el condroitín-4-sulfato, el condroitín-6-sulfato y el queratán sulfato; la cantidad de estos mucopolisacáridos varía con la edad del paciente y con la zona del cartilago.<sup>11</sup> Esta macromolécula al entrar en contacto con el agua se dilata y forma una estructura similar a un escobillón con una consistencia gelatinosa. El tamaño y consistencia del proteoglicano hidratado le confieren las propiedades mecánicas y físico-químicas al cartilago articular, como son la turgencia, la acción de filtro molecular permitiendo el paso selectivo de moléculas y evitando el ingreso de enzimas degradativas. La carga negativa de los polisacáridos sulfatados, contribuye a la regulación de la difusión de electrolitos, y por ende regulan el metabolismo articular.<sup>11</sup>

El colágeno del cartilago articular es del tipo II predominantemente, existiendo colágeno de tipos V, VI, IX, y X en diversas concentraciones. El colágeno tipo II, se encuentra conformado por tres cadenas alfa-1, las cuales poseen más hidroxilina que los otros tipos de colágeno; por esta razón estas fibras poseen menor diámetro, afectando la estructura mecánica del tejido.<sup>25</sup>

Las moléculas de proteoglicano y las fibras colágeno se encuentran unidas a nivel de los grupos sulfato negativos del proteoglicano, y de los restos de guanidina cargados positivamente del colágeno.

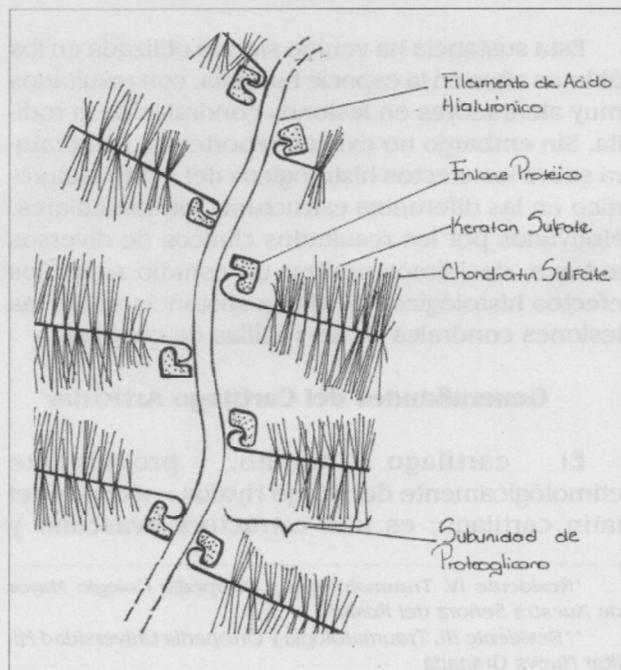


Figura No. 2

La unión entre la fibra colágeno y el codroitín 4 sulfato es mucho más fuerte, y es la que se encuentra en pacientes jóvenes, mientras que en personas mayores la unión se realiza entre el colágeno y el queratán sulfato, siendo ésta más débil.<sup>12</sup>

La matriz del cartílago articular está compuesta 15% de proteoglicanos; 15% de colágeno; y 70% de agua. El contenido de agua en el cartílago articular varía dependiendo de su localización. No existe cambio en el contenido de agua con la edad, y ésta se mantiene unida tanto a la fibra colágena como al proteoglicano principalmente, por ser un coloide hidrofílico.<sup>14</sup>

La matriz cartilaginosa está conformada por los condrocitos, los cuales varían considerablemente de tamaño, forma y número por unidad de volumen. Las células de la superficie del cartílago son más planas, más pequeñas y de distribución más compacta que las células de las zonas más profundas de la matriz.<sup>14</sup>

El contenido de agua del cartílago articular es extraordinariamente importante para mantener la elasticidad del tejido, así como para contribuir a disminuir la fricción asociada al movimiento. Condiciones como inmovilizaciones prolongadas, denervación periarticular y movilidad articular sin apoyo, producen un aumento en el contenido total de agua.<sup>24</sup>

**Tabla No. 1**  
Composición bioquímica aproximada del cartílago articular del adulto

Materiales	Porcentaje
Agua	65% - 80%
Sólidos	
Inorgánicos	
Varios	5% - 6%
Orgánicos	
Colágeno	48% - 62%
Proteoglicano	30% - 38%
Hialuronato	1% - 2%
Lípidos	1% - 2%
Condronectina	<1%
Achorin	<1%
Colágenos Menores	2% - 3%
Matriz Proteica	? 15%

El condrocito requiere sólo una pequeña cantidad de oxígeno para su metabolismo. La célula cartilaginosa depende de la difusión de nutrientes del líquido sinovial, y es imperioso que la membrana sinovial esté sana y que la circulación del líquido a través de la articulación sea suficiente.<sup>14</sup>

Cuando una articulación es sometida a una inmovilización, se produce una estasis en la circulación del líquido sinovial, lo cual ocasiona una disminución en el aporte de nutrientes al condrocito.<sup>2</sup>

### Reparación del Cartílago Articular

En 1851 Redfern realizó incisiones en cartílago articular de la rótula y del fémur en caninos; éstas incisiones permanecieron abiertas mucho tiempo y finalmente ocurría la reparación a expensas de tejido conectivo procedente de los bordes cartilaginosos, describiendo una leve proliferación cartilaginosa.<sup>14</sup>

En 1922 Fisher experimentó en conejos, y observó una rica proliferación de células cartilaginosas alrededor de la incisión. Este autor evidenció que el defecto cartilaginoso total producido quirúrgicamente se había rellenado con fibrocartílago al cabo de cinco meses; adujo que este relleno era debido a la proliferación celular del cartílago profundo vecino al defecto.<sup>14</sup>

En 1955, Bucker; y en 1963, Meachim; concluyeron que la cicatrización provenía del hueso subcondral. Observaron que en las lesiones producidas existía muerte celular y depleción de glucosaminoglucanos de la matriz.<sup>14</sup>

En 1967, Mankin y Boyle produjeron desgarros en el cartílago articular de conejos de 2 meses de edad, encontrando un aumento en la síntesis de proteínas y en la producción de glucosaminoglucanos; y la síntesis de DNA aumentaba dentro de los primeros siete días, como un indicador de la proliferación celular.<sup>14</sup>

En 1965, Simmons y Christman concluyeron que la degradación de la matriz disminuía, aumentando la velocidad de cicatrización de las lesiones del cartílago articular en animales tratados con salicilatos.<sup>16, 8</sup>

Bennett y Bauer en 1935, experimentaron en perros adultos jóvenes, el comportamiento del cartílago articular ante lesiones parciales y totales,

encontrando que en ambos grupos había cierre superficial con fibrocartilago mientras que en la parte profunda con cartilago hialino.<sup>14</sup>

Shands en 1931, clarificó la diferente respuesta del cartilago articular, ante las lesiones parciales, y aquellas que comprometen el hueso subcondral, en las cuales la actividad reparadora es mucho más extensa cuando la lesión se extiende hasta el hueso subcondral.<sup>14</sup>

Carlson en 1957, practicó exsición del 50% del cartilago rotuliano en una población de conejos, observando reparación en el 67% de todos los animales al cabo de 3 meses, con un aumento de la actividad celular, la cual fue determinada por el aumento en la captación de sulfato 35 por los condrocitos.<sup>4</sup>

Calandruccio y Gilmer en 1962, experimentaron en perros inmaduros esqueléticamente, encontraron que en los defectos completos aparecía proliferación de tejido de granulación proveniente del hueso subcondral, llenando los defectos casi por completo, con una cantidad variable de cartilago hialino en la superficie. De este estudio sólo el 10% de la población estudiada presentó reparación del defecto con cartilago hialino.<sup>3</sup>

De Palma y colaboradores en 1966, estudiaron defectos parciales y totales del cartilago en perros maduros e inmaduros esqueléticamente, informando que los defectos de grosor parcial no mostraban reparación de interés, mientras que los defectos de grosor total se habían rellenado a los cuatro meses con cartilago inmaduro. El examen histológico y radiológico condujo a estos autores a concluir que el neocartilago provenía del tejido de granulación, proveniente del hueso subcondral. Por lo tanto definieron los autores que hay cicatrización del cartilago articular, sólo cuando se lesiona el hueso subcondral.<sup>5</sup>

Salter en 1972, demostró los beneficios en la reparación del cartilago articular en rodillas de conejos sometidos a lesiones condrales femorales, manejados con movimiento pasivo continuo en su post-operatorio.<sup>20</sup>

El cartilago articular puede iniciar un proceso reparador cumpliendo ciertas condiciones, pero este tejido de reparación resultante, usualmente difiere del cartilago articular normal, no solamente en su composición molecular, sino también en

la organización celular, en sus propiedades mecánicas, y por ende en su durabilidad.<sup>21</sup>

El éxito de la reparación del cartilago depende de varios factores, como son la localización y extensión de la lesión, así como también dependiendo de si la lesión es exclusiva del cartilago articular, o si por el contrario, compromete también el hueso subcondral.<sup>21</sup>

Las laceraciones perpendiculares del cartilago articular no producen respuesta inflamatoria; los condrocitos del sitio de la lesión mueren, y no se sucede una migración de nuevos condrocitos al área lesionada. Aunque no hay reparación del defecto, estas lesiones superficiales raramente progresan.<sup>21</sup>

Las laceraciones tangenciales, o paralelas a la superficie articular, ocasionan la muerte de los condrocitos, pero en este caso los condrocitos adyacentes pueden sintetizar matriz y llenar el defecto; sin embargo la durabilidad de esta cicatriz es impredecible. Una lesión completa del cartilago articular, comprometiendo el hueso subcondral, desencadena una cascada de respuesta inflamatoria, cuyo resultado final es una curación del defecto a expensas de fibrocartilago que definitivamente no tiene las propiedades físicas y mecánicas del cartilago hialino. La composición de éste tejido fibrocartilaginoso y su estructura son imperfectas, y la integridad y durabilidad de este nuevo tejido es impredecible.<sup>21</sup>

Furukagua y colaboradores, estudiaron la cantidad de colágeno de tipo I y II, en la reparación de lesiones condrales en conejos; encontrando una gran cantidad de colágeno tipo I predominante, y una proporción disminuida de colágeno tipo II. El colágeno tipo I contiene una gran cantidad de proteoglicanos de pequeño tamaño, con pobres propiedades elásticas comparadas con los proteoglicanos del colágeno tipo II. Esta disminución de la elasticidad del cartilago reparado, conllevan a fibrilaciones y rupturas del tejido cicatrizal.<sup>22</sup>

### Acido Hialurónico

El Acido Hialurónico es un mucopolisacárido obtenido por un ultrafiltrado molecular de alta pureza de suero de gallos, con un peso molecular de 500.000 a 730.000 Daltons. Esta molécula confiere las propiedades viscoelásticas y lubricantes del líquido sinovial, y la integridad estructural de

la matriz cartilaginosa. Estas características aparentemente le otorgan la capacidad de mejorar la función del cartílago articular, así como para activar su reparación. Resultados de estudios realizados por cromatografía electrónica muestran que esta sustancia induce la agregación de subunidades de proteoglicanos al cartílago articular lesionado, favoreciendo la cicatrización y por ende la mejoría funcional.<sup>9</sup>

El Hialuronato ya no es considerado como un simple lubricante articular sino por el contrario, se le acreditan efectos benéficos como el de retardar la degradación del cartílago lesionado y de tener un efecto metabólico importante sobre el tejido sinovial, el tendón y los ligamentos.<sup>18</sup>

Otros estudios realizados en equinos, con osteoartrosis postraumática secundaria a fracturas del carpo, muestran una reducción de la captación subcondral de radionucleótidos en aquellas articulaciones tratadas con Acido Hialurónico, lo cual podría sugerir un efecto antiinflamatorio.<sup>17</sup>

En estudios de angiogénesis se ha documentado el poder antiinflamatorio del Acido Hialurónico mejorando articulaciones rígidas, dolorosas e inflamadas de diversa etiología, pero en especial secundarias a patología reumática.<sup>19</sup>

En 1960, el ácido hialurónico fue utilizado por primera vez en el humano y su objetivo era utilizar su poder antiinflamatorio en los reemplazos de vitreo, keratoplastias e implantación de lentes intraoculares.

En cirugía ortopédica Balanz.<sup>19</sup> fue el primero en utilizar el ácido hialurónico con el objeto de suprimir la proliferación sinovial y de prevenir el progreso de la osteoartrosis postraumática, reportando buenos resultados clínicos así como también la seguridad de su uso, la farmacodinamia y su metabolismo en la especie humana.

El ácido hialurónico es considerado un glucosaminoglicano no tóxico, que no induce anafilaxia pasiva ni tampoco producción de anticuerpos tras la infusión intrarticular ni sistémica.<sup>19</sup>

La molécula de Acido Hialurónico (Figura 3), es sintetizada por el condrocito, y estudios recientes la catalogan como el factor agregante más importante de subunidades de proteoglicanos.

La infusión intraarticular de la molécula de Acido Hialurónico puede generar efectos colaterales, tales como edema, calor y rubor articular, los cuales se resuelven espontáneamente entre el segundo y quinto día post-infusión. Paralelo a la realización de este trabajo experimental, fue reportado en la literatura una revisión de los aspectos clínicos y farmacológicos de la infusión intraarticular del Acido Hialurónico, en donde se manifiesta el interés actual de este medicamento, y hacen mención a algunas revisiones todavía inconclusas de la respuesta del paciente reumático al Acido Hialurónico, en especial en artrosis temporomandibular, en la protección post-artroscópica del cartílago articular, e incluso en la profilaxis de las adherencias y fibrosis peritendinosas.<sup>10</sup>

### Justificaciones

En la actualidad se viene utilizando el Hialuronidato Sódico como coadyudante en el manejo de las lesiones articulares en la especie humana, sin tener un conocimiento detallado de la respuesta histológica de las estructuras articulares ante el Acido Hialurónico.<sup>15</sup>

### Problema

Cuáles son los efectos del ácido hialurónico sobre las lesiones del cartílago articular en la rodilla del conejo?

Existe una correlación significativa entre los resultados funcionales y los resultados histopatológicos, en una población de conejos con lesiones del cartílago articular de la rodilla que son tratados con ácido hialurónico?

### Objetivo General

Evaluar los resultados funcionales e histológicos de la rodilla del conejo con lesión articular tratada con Acido Hialurónico intraarticular.

### Objetivos Específicos

Evaluar los resultados histológicos, tanto del cartílago sano como del lesionado tratados con ácido hialurónico en la rodilla del conejo. Correlacionar los resultados funcionales, con los resultados histológicos, en cada grupo de estudio. Comparar la respuesta histológica del cartílago articular lesionado entre las rodillas de conejos sometidas al tratamiento del ácido hialurónico, y sin él. Comparar los resulta-

dos funcionales de las rodillas lesionadas tratadas o no con ácido hialurónico.

### Propósito

Documentar el comportamiento del cartilago articular sano y lesionado de la rodilla del conejo, ante el estímulo del hialuronidato sódico.

Generar inquietudes para desarrollar investigación en una población escogida de la especie humana en la que el ácido hialurónico sea una alternativa terapéutica.

### VARIABLES

#### A- Variable Independiente:

Acido hialurónico: 2 mg. cada cinco días por tres dosis.

#### B- Variables Dependientes:

- a- Resultados funcionales (Movilidad articular).
- b- Estudio histopatológico (Respuesta celular).

#### C- Variables Control:

- a- Raza.
- b- Peso
- c- Edad.
- d- Otros.

### Hipótesis

El Hialuronidato sódico promueve la regeneración del cartilago articular lesionado.

Existe una correlación significativa entre los resultados funcionales y los resultados histopatológicos en conejos con lesiones del cartilago articular de la rodilla tratados con ácido hialurónico.

### Metodología

#### Diseño

Se realizó un estudio de laboratorio, de tipo experimental con grupo control.

#### Población

Se estudiaron 40 rodillas de 20 conejos de raza Nueva Zelanda, todos de 4 meses de edad, con peso y talla similares, considerados como maduros esqueléticamente; cuyo hábitat se encuentra a 2600 mts. sobre el nivel del mar. Toda la población se estudió bajo las mismas condiciones locativas, higiénicas y nutricionales.

Se incluyeron en el trabajo conejos sanos, en adecuadas condiciones nutricionales, los cuales fueron valorados previamente por un médico veterinario. Toda la población se encontraba libre de traumatismos en sus extremidades, así como exenta de enfermedades musculoesqueléticas.

Toda la población en estudio tenía cuatro meses de edad.

Los conejos fueron divididos en cuatro grupos:

GRUPO 1 : 10 conejos (20 rodillas) con lesiones condrales en ambas rodillas, aplicándoles el ácido hialurónico en ambas rodillas.

GRUPO 2 : 5 conejos (10 rodillas), con lesiones condrales bilaterales sin ácido hialurónico.

GRUPO 3 : 5 conejos (10 rodillas), Rodillas sanas a las cuales se les aplicará en mismo esquema del ácido hialurónico.

GRUPO 4 : Un conejo para estudio piloto histológico sano.

### Procedimiento

Se realizó inicialmente un estudio piloto llevando a cabo la disección de las rodillas del conejo del grupo 4; estudiando la anatomía normal de éstas, encontrando articulaciones diartrodias con un sistema cápsulo-menisco- ligamentario similar a la rodilla humana. (Figura 4). Se estableció la técnica quirúrgica para realizar las artrotomías, mediante un abordaje medial, incidiendo el retináculo para exponer el cóndilo interno. Este conejo del grupo piloto fue sacrificado, y sus rodillas fueron llevadas al laboratorio de patología para un estudio histológico del cartilago articular, el cual reportó una histología similar al cartilago de la especie humana.

Los 20 conejos restantes de los grupos 1., 2. y 3. fueron sometidos a un examen previo en conjunto con el médico veterinario para verificar su adecuado estado de salud, y para consignar los arcos de movimiento pasivos de sus rodillas.

Los 15 conejos de los grupos 1. y 2. fueron posteriormente sometidos a cirugía de sus rodillas, bajo anestesia general con Ketamina y Tiopental sódico, a dosis establecidas por el veterinario. Se utilizó antibioterapia profiláctica intramuscular, utilizando cefalotina a dosis de

100 mg. / Kg de peso. Previa asepsia y antisepsia y colocación de campos operatorios, se realizaron artrotomías bilaterales, con la técnica ya descrita, causando lesiones condrales totales uniformes en el cóndilo interno sobre superficie de apoyo, utilizando una broca de 2.5 mm. con motor de baja velocidad manual. (Figura 5)

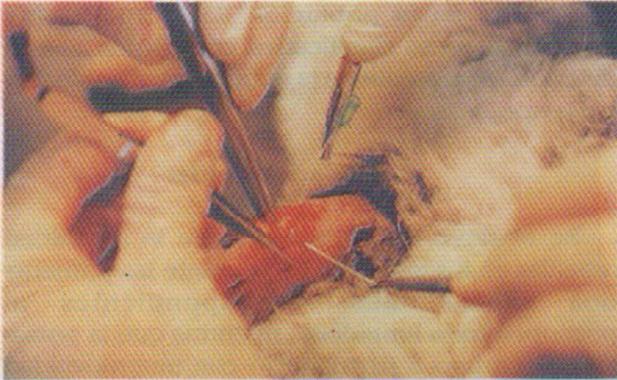


Figura 4. Estudio Anatómico. Grupo Piloto



Figura 5. Lesión Osteocondral en Zona de Apoyo del Cóndilo Interno (BROCA DE 2.5 MM)

En el post-operatorio inmediato se limpiaron las heridas con solución yodada y se dejaron las heridas descubiertas, sin ninguna inmovilización, permitiendo la marcha dentro de un espacio reducido de 3 x 1.5 metros.

Se realizaron curaciones diarias de las heridas manteniendo todos los conejos bajo las mismas condiciones nutricionales y ambientales.

Se aplicó a partir del décimo día postoperatorio, a las rodillas de los 10 conejos del grupo 1.; y a las rodillas de los 5 conejos del grupo 3. el mismo día, 2 mg. de Acido Hialurónico intraarticular en cada rodilla, por un abordaje parapatelar externo, dosificando la droga con jeringas de insulina desechables. Se repitieron las mismas dosis, con la misma técnica cada 5 días, hasta completar tres

dosis a cada rodilla. La dosis recomendada en la literatura veterinaria del Acido hialurónico, para articulaciones de pequeño tamaño es de 0,5 a 1 mg. por Kg. de peso, semanal por un tiempo que no exceda las cuatro semanas.

Se realizó una evaluación clínica periódica, estudiando la marcha, el perímetro articular y los arcos pasivos de movimiento, de las rodillas de cada conejo. Estos resultados parciales se recolectaron en una hoja diseñada para tal fin, la cual se adjunta como anexo. 1. A las seis semanas postoperatorias se sacrificaron los animales de los tres grupos y se obtuvieron registros fotográficos de los resultados macroscópicos de las rodillas disecadas. Se resecaron las piezas anatómicas y se prepararon en solución de formol al 10% rotuladas y marcadas individualmente para ser estudiadas histológicamente.

Estos especímenes escogidos fueron preparados por el técnico de patología, realizándoles cortes con un micrótopo en la zona señalada por los autores, correspondiente a la lesión osteocondral inducida.

Fueron sometidas estas muestras a un proceso de descalcificación, mediante una técnica estandarizada de laboratorio.

Una vez completado el proceso de descalcificación, las muestras fueron montadas en portaobjetos, con sus coloraciones correspondientes.

La población en estudio fue evaluada en nueve oportunidades, registrando los parámetros clínicos de evaluación en una hoja de recolección de datos diseñada previamente para tal fin.

Fueron valorados en el transcurso de su post-operatorio, de la siguiente manera:

- 1a. Evaluación: 48 hrs. POP. (10 Mayo/93)
- 2a. Evaluación: 7 días POP. (15 Mayo/93)
- 3a. Evaluación: 11 días POP. (19 Mayo/93)
- 4a. Evaluación: 14 días POP. (22 Mayo/93)
- 5a. Evaluación: 19 días POP. (27 Mayo/93)
- 6a. Evaluación: 24 días POP. (1 Junio/93)
- 7a. Evaluación: 27 días POP. (4 Junio/93)
- 8a. Evaluación: 33 días POP. (10 Junio/93)
- 9a. Evaluación: 51 días POP. (28 Junio/93)

Los datos obtenidos durante estas evaluaciones fueron sometidos a un análisis estadístico mediante

un programa computarizado SPSS/PC+; con el fin de determinar significancia estadística.

Las variables analizadas fueron; marcha, flexión, extensión, y perímetro articular; estas variables se analizaron en cuatro momentos a través del estudio. En el preoperatorio, en el postoperatorio inmediato, durante el tratamiento y al final de éste. El patrón normal de flexión fue de 135 grados, el de extensión de 0 grados, medidos en forma pasiva con un goniómetro, fijando la cadera del conejo. El patrón normal del perímetro articular fue determinado por un promedio de la medición de la articulación de la rodilla en extensión, mediante una cinta métrica; este promedio fue de 8.2 cm con un intervalo entre 6,5 y 9.7 cm.

El patrón de marcha considerado como normal fue aquel que permitía un desplazamiento sin dificultades, como el observado en toda la población antes del procedimiento quirúrgico; la marcha laboriosa fue aquella en la cual los conejos presentaban algún grado de dificultad para su desplazamiento, por una disminucin en la fase de apoyo y una marcada debilidad para su propulsión. La postración se interpretó como la imposibilidad absoluta para el desplazamiento.

Se analizaron las variables intragrupo e intergrupos, con los métodos de Friedman, Chi cuadrado, T de Students, y U de Mann-Whitney.

### Resultados Clínicos

#### *Marcha*

La evaluación clínica de la marcha se realizó con base en un análisis del tipo de marcha y el desplazamiento logrado. Calificándola como normal, laboriosa o postrada.

Las poblaciones de los grupos 1 y 2 durante las tres primeras evaluaciones, mostraron marchas laboriosas con marcada dificultad para sus desplazamientos dentro de la zona permitida durante su postoperatorio.

La población del grupo 3, no mostró alteraciones de la marcha durante todas las evaluaciones.

A partir de la cuarta evaluación, se evidenció una notable mejoría de la calidad de la marcha en la población del grupo 1, la cual fue progresiva

hasta encontrar marchas normales a partir de la séptima evaluación.

La población del grupo 2 evolucionó tórpidamente, encontrando al final de la evaluación un 63% postrado y el 37% restante con una marcha laboriosa.

La mejoría progresiva de la calidad de la marcha observada en la población del grupo 1, fue estadísticamente significativa comparada con el deterioro persistente de la marcha en la población del grupo 2.

### Movilidad Articular

Se observó un decremento de la movilidad articular en los grupos 1 y 2, durante las primeras dos evaluaciones, correspondientes al post-operatorio inmediato, mientras que la población del grupo 3 permaneció con una movilidad articular dentro de parámetros normales. Durante la cuarta y quinta evaluación, se registró una mejoría notable de la movilidad articular en la población del grupo 1; esta mejoría funcional persistió hasta el final de la evaluación.

La población del grupo 2 presentó leve mejoría de la movilidad articular, a partir de la séptima evaluación, persistiendo limitados los arcos de movilidad.

La ganancia en los arcos de movimiento de las rodillas del grupo 1, tanto para flexión como para extensión, fue estadísticamente significativa, con respecto a la limitación persistente de las rodillas del grupo 2.

### Perímetro Articular

La población de los grupos 1 y 2, mostraron un leve aumento del perímetro articular, en su post-operatorio inmediato, el cual disminuyó progresivamente hasta valores cercanos a los normales, a partir de la cuarta evaluación en el grupo 1; mientras que la población del grupo 2 presentó un incremento progresivo del perímetro articular, coincidiendo con la limitación funcional, tanto para los arcos de movilidad como para el patrón de marcha.

La población del grupo 3 no mostró alteraciones en el perímetro articular.

Se encontraron diferencias en el perímetro articular de todas las rodillas, previas al procedimiento quirúrgico, las cuales fueron estadís-

ticamente significativas; por lo tanto se invalida la significancia estadística de las diferencias encontradas posteriormente.

### Resultados Macroscópicos

Al obtener las piezas anatómicas de la población en estudio, se observó que el 100% de las rodillas del grupo 1 presentaban algún grado de reparación del defecto osteocondral inducido quirúrgicamente; de los cuales el 73% se encontró a nivel del cartílago adyacente. (Figura 6)

Las características macroscópicas más llamativas de este tejido neoformado, fue una configuración numular de aspecto ligeramente pálido, y con una consistencia similar al tejido adyacente.

En la población del grupo 2 fue llamativa la persistencia del defecto osteocondral en el 100% de los especímenes, cuya característica principal fue la irregularidad de los bordes de la lesión, con distintos niveles de cicatrización. (Figura 7)

En el grupo 3 no se observó ningún cambio macroscópico que ameritara análisis. (Tabla 2)

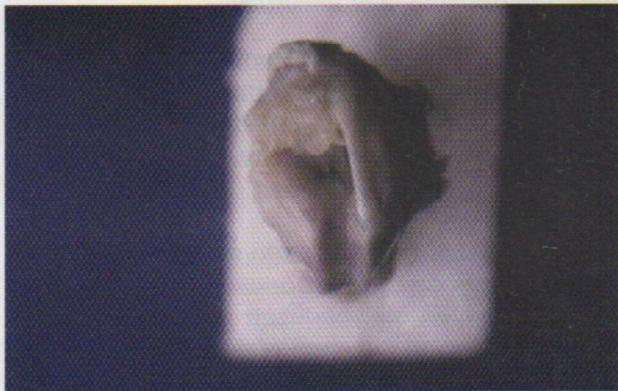


FIGURA 6 Resultado Macroscópico Rodilla Grupo 1 Obsérvese la respuesta cicatrizal a nivel del cartílago articular adyacente.



FIGURA 7. Resultado Macroscópico Rodilla Grupo 2 Obsérvese la persistencia del defecto del cartílago articular.

**Tabla No. 2**  
Resultados Macroscópicos

Apariencia Macroscópica			
	Cicatriz Nivel Adyacente	Persistencia del Defecto	Cicatriz A Desnivel
G-1	73%	-	27%
G-2	-	100%	100%
G-3	-	-	-

### Resultados Microscópicos

El estudio piloto realizado en el grupo 4, mostró en la superficie articular condrocitos de apariencia delgada, con núcleos planos y ejes largos de disposición paralela. En la parte más profunda la disposición de los condrocitos fue columnar. Cerca del fondo del cartílago se encontró una línea que delimita la substancia intercelular calcificada de la no calcificada. Por debajo de este último reparo se encuentra hueso esponjoso ricamente vascularizado.

Los estudios histológicos de las piezas correspondientes al grupo 1, mostraron una respuesta reparativa compatible con cartílago hialino en siete de ellas (64%); formación mixta de fibrocartilago y cartílago hialino en tres (27%); y en un caso (9%) se observó tejido osteofibroso. (Figura 8)

El 73% de las rodillas del grupo 1 mostraron una cicatrización nivelada con el cartílago adyacente; el 18% presentó una cicatrización deprimida; y el 9% restante una respuesta cicatrizal por encima del nivel del cartílago vecino.

De las rodillas cicatrizadas con cartílago hialino, cinco (72%), se encontraban niveladas con el cartílago adyacente, y las dos restantes (28%), evidenciaron una cicatrización deprimida.

Se analizaron seis rodillas correspondientes al grupo 2, de las cuales, cuatro (67%) evidenciaron una cicatrización con fibrocartilago; y dos (33%), con tejido osteofibroso; todas ellas fueron deprimidas con respecto al cartílago articular adyacente. (Figura 9).

Las rodillas de los conejos del grupo 3, se encontraron con cartílago articular de aspecto normal. (Tabla 3)



FIGURA 8. Resultados Microscópicos Rodilla Grupo 1. Obsérvese la cicatrización del defecto a expensas de cartilago hialino.



FIGURA 9. Resultados Microscópicos Rodilla Grupo 2. Obsérvese la cicatrización desordenada e insuficiente del defecto inducido.

**Tabla No. 3**  
Resultados Microscópicos

	Respuesta Cicatrizal Histológica		
	Cartilago Articular	Fibrocartilago	Osteofibroso
G-1	64%	27%	9%
G-2	-	67%	33%
G-3	100%	-	-

### Complicaciones

De las cuarenta rodillas con las cuales se inició el estudio se perdieron para la evaluación clínica final 8 rodillas, 6 de las cuales pertenecían al grupo 1 y 2 rodillas al grupo 2.

2 conejos (4 rodillas) murieron en el transoperatorio y 1 conejo (2 rodillas) murió en el

postoperatorio inmediato. Otro conejo fue sacrificado por infección y descartado del estudio.

Durante la preparación de las muestras para el estudio histológico se dañaron durante el proceso de corte con el micrótopo 3 muestras del grupo 1 y 2 muestras del grupo 2.

### Análisis y Discusión

Las lesiones osteocondrales de la rodilla humana tienen una alta frecuencia de presentación, en especial en la población laboral que está sometida a actividades físicas demandantes.

Estas articulaciones dolorosas, han venido siendo manejadas a través del tiempo con antiinflamatorios esteroideos y no esteroideos, por vía oral e incluso con infusiones intrarticulares de soluciones esteroideas para dar alivio a la articulación artrítica. Sin embargo, es bien conocido que el uso indiscriminado de estas medicaciones, ocasionan efectos colaterales y secundarios muy serios en distintos órganos y sistemas de la economía humana, haciendo de estos manejos una solución inapropiada e incluso peligrosa.

El manejo sedativo y rehabilitador que ofrece la terapia física es de gran utilidad, pero no es la alternativa completa de solución al problema, y continúa siendo solo un coadyudante en el manejo integral de estos pacientes.

Además de lo mencionado anteriormente, nos encontramos con poblaciones de características muy especiales que padecen cambios artríticos tempranos en articulaciones de soporte como la cadera, la rodilla o el cuello del pie, como son los deportistas de alta competencia, en quienes el manejo convencional es insuficiente, y además arriesgado para su futuro.

Las bondades antiinflamatorias, el equilibrio que establece entre la neoformación de cartilago y su degradación, así como el efecto regenerador de cartilago hialino, hace del ácido hialurónico una alternativa terapéutica muy interesante para el manejo de algunas patologías articulares.

Los datos y registros de este estudio, fueron sometidos a un análisis estadístico, mediante pruebas computarizadas específicas para el tipo y tamaño de la población; los resultados mostraron cambios estadísticamente significativos entre los grupos tratados y no tratados con ácido hialurónico.

La mejoría clínica del grupo 1, en las tres variables de marcha, movilidad articular, y perímetro articular, mostraron cambios hacia la curación, a partir de la aplicación de la primera dosis del ácido hialurónico y la mejoría fue en ascenso progresivo, para terminar el estudio con parámetros funcionales cercanos a lo normal.

La calidad de la marcha y la ganancia de movilidad articular, fueron notablemente estimuladas por la aplicación del ácido hialurónico, al igual que el volumen periarticular de las rodillas operadas, el cual disminuyó rápidamente corroborando la capacidad antiinflamatoria del hialuronidato, y mejorando probablemente el metabolismo local de la rodilla.

El grupo 2, a quien se le realizó el mismo procedimiento quirúrgico, bajo las mismas condiciones del grupo 1, pero que no se le aplicó el ácido hialurónico, mostró resultados clínicos, marcadamente inferiores comparándolos con el grupo que sí se le aplicó el ácido hialurónico.

La calidad de la marcha de este grupo fue laboriosa y en la mayoría de los casos los conejos se encontraban incapacitados para desplazarse aunque fuera distancias cortas.

Lo anotado anteriormente se refiere a la observación clínica, que comparada con lo referido por diversos autores que han utilizado este producto, arroja resultados similares, referidos a la disminución de la inflamación y a la mejoría de la función, lo cual podría atribuirse al efecto antiinflamatorio, y regenerador sobre el tejido cartilaginoso y sinovial.

Hasta el presente las bondades del ácido hialurónico, se han fundamentado principalmente en las observaciones clínicas de su uso en animales,<sup>7</sup> y artículos recientes arrojan resultados similares de su uso en humanos.<sup>10</sup> Sin embargo el efecto histológico sobre las estructuras intraarticulares no se encuentra claramente referenciado en la literatura.

Los resultados histológicos del presente estudio, a pesar de tratarse de observaciones obtenidas en una población reducida muestran diferencias muy evidentes entre los grupos sometidos a la aplicación del ácido hialurónico, y los que no lo fueron.

El bajo número de casos estudiados histológicamente, no permite hacer un análisis estadístico, sin embargo las diferencias observadas entre los grupos son tan grandes que difícilmente podrían deberse al azar. Además la estrecha correlación entre los resultados clínicos e histológicos, le dá suficiente fortaleza a los segundos como para atribuir que la respuesta histológica observada, es dependiente de la aplicación del ácido hialurónico.

Llama poderosamente la atención la alta frecuencia de regeneración con cartílago hialino (64%), en el grupo tratado con ácido hialurónico, en comparación con el otro grupo en el cual ninguna lesión cicatrizó con cartílago hialino. Esto podría indicar que el ácido hialurónico no sólo favorece la cicatrización del cartílago, sino que promueve la diferenciación hacia cartílago articular. (Figura 10)

Por último teniendo presente que las rodillas de los conejos no fueron inmovilizadas, se puede deducir que además del movimiento articular, el ácido hialurónico indujo una mayor cicatrización, ya que el 73% de las lesiones presentaban un llenado a nivel con la superficie articular, mientras que en el grupo no tratado todas las lesiones estaban por debajo del nivel del cartílago articular.

Se hace necesario un estudio macroscópico y microscópico de la respuesta del cartílago articular lesionado, en el humano al ácido hialurónico, ya que hasta el momento sólo se han observado sus resultados clínicos aislados.



FIGURA 10. Comparación Resultados Macroscópicos de Rodillas Grupos 1 y 2 Obsérvese la reparación de la rodilla del grupo 1, llenando completamente el defecto, en comparación con una rodilla del grupo 2 donde persiste el defecto.

### Conclusiones

Las conclusiones que vamos a emitir son válidas en referencia a su uso en el conejo. Esperamos poder extrapolar estos resultados a la población humana en general, una vez hagamos algunas observaciones clínicas e histológicas en la especie humana.

- 1- El ácido hialurónico disminuye el aumento de volumen articular en la rodilla lesionada.
- 2- La movilidad articular en rodillas con lesiones condrales, se mejora con la aplicación de ácido hialurónico.
- 3- Por lo anterior la marcha del conejo con rodillas lesionadas, se mejora con la aplicación del ácido hialurónico.
- 4- El ácido hialurónico promueve la regeneración del cartilago articular lesionado hacia cartilago hialino.
- 5- El ácido hialurónico, al promover la regeneración cartilaginosa, regulariza la superficie articular lesionada.
- 6- En términos generales se puede concluir que el ácido hialurónico aplicado intraarticularmente, trae beneficios clínicos e histológicos en presencia de lesiones condrales de tipo traumático.
- 7- Se hace necesario un estudio en humanos, para corroborar la efectividad del ácido hialurónico.

### Bibliografía

1. **Bullough, P. and Goodfellow, J.** (1968) The significance of the fine structure of articular cartilage. J.B.J.S. 10.B., 852-857.
2. **Bullough, P. and Walker, P.** (1976) The distribution of load through the knee joints and its possible significance to the observed patterns of articular cartilage breakdown. Bull. Hosp. Jt. Dis. 37, 110.
3. **Calandruccio, R.A. and Gilmer, W.S.** (1962) Proliferation, regeneration, and repair of the articular cartilage of immature animals. J.B.J.S. 44.A. 431.
4. **Carlson H.** (1957) Reaction of rabbit patellar cartilage following operative defects. A morphological and autoradiographic study. Acta Orthop. Scand. Supp. 28.
5. **De Palma, A.F., McKeever, C.D. and Subin, D.K.** (1966) Process of repair of articular cartilage demonstrated by histology and autoradiography with tritiated thymidine. Clin. Orthop. 48, 229.
6. **Gardner D.L. and Woodward D.** (1969) Scanning electron microscopy and replica studies of articular surfaces of guinea pig synovial joints. Ann. Rheum. Dis. 28, 379-391.
7. **Gingerich, D.A. et al.** (1981) Effect of exogenous hyaluronic acid on joint functions in experimentally induced equine osteoarthritis; dosage titration studies. Research Veterinary Science. Vol.30, 192-197.
8. **Gold, E., Anderson, L., Miller Ch. and Schwartz, E.** (1976) Effect of salicylate on the surgical inducement of joint degeneration in rabbit knees. J.B.J.S. Vol.58A. No.7
9. **Hascall, V.C. and Heingard, D.** (1974) Aggregation of cartilage proteoglycans, the role of hyaluronic acid. Journal of Biological Chemistry. 29.A. 423-433.
10. **Hisashi Iwata.** pharmacologic and clinical aspects of intrarticular injection of hyaluronate. clinical orthopedics and related research #289 april 1993
11. **Maroundas, A. Bullough, P. Swanson, S.A. and Freeman, M.A.** (1968) The permeability of articular cartilage. J.B.J.S. 50.B. 166.
12. **Mitchell, N. and Shepard, N.** (1976) The localization of articular cartilage proteoglycan by electron microscopy. Trans. of the 22nd. Annual Meeting Orthopaedic Research Society. 1, 100.
13. **Nakanawa, K. Nozaki.** Antigencity studies on sodium hyaluronidate. experiments in mouse and rabbit. Jpn pharmacol ther toxicol. 12:151, 1984.
14. **Owen, R. Goodfellow, J. Bullough, P.** (1984) Fundamentos científicos de Ortopedia y Traumatología. E. Salvat.
15. **Peyron, J.G. and Balazs, E.A.** preliminary clinical assessment of Na-hyaluronate injection into human arthritic joints. Pathol. Biol 22:731, 1974.
16. **Simmons, D.P. and Chrisman, O.D.** (1965) Salicylate inhibits of cartilage degeneration. Arthritis Rheum. 8. 960.
17. **Swann, D.A. et al.** (1974) Role of Hyaluronic acid in joint. Annals of the Rheum. Dis. 33, 318-326.
18. **Uribe, C.** (1993) Hospital San Ignacio. Comunicacin personal.
19. **West, D.C. Hampson.** Angiogenesis induced by degradation products of hyaluronic acid. science 228:1324, 1985.
20. **Salter.** The induction of neochondrogenesis in free intrarticular periosteal autograft under influence of continuous pasive motion: experimental investigation in the rabbit. Journal of bone and joint surgery vol 64B pg 1248 1983.
21. **Fulkerson, J. Kalenak, A. Rosenberg, T.** Patellofemoral pain. Chapter 6. Instructional Course Lectures. Vol. XLI 1992. pp. 57-71
22. **Furukagua, T. Eyre, D.R. Koide, S.** Biochemical studies on repair cartilage resurfacing experimental defects in the rabbit knee. J.B.J.S. Vol. 62.A. 1980. : 79-89
23. **Mankin H.J.** The articular cartilage; cartilage healing and osteoarthritis in adult orthopaedics. Edited by R.L. Cruess, W.R.J. Rennie. New York 1984. pp. 163-270
24. **Mankin H.J.** Articular cartilage, cartilage injury, and osteoarthritis. Chapter 2. The patellofemoral joint. McGraw Hill, Inc. 1993. pp. 13-37