



UNIVERSIDAD DE A CORUÑA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA

TESIS DOCTORAL

EFFECTO DE LA CARRERA CONTINUA SOBRE EL
CARTÍLAGO ARTICULAR DE RATAS JÓVENES

MIGUEL ÁNGEL SAAVEDRA GARCÍA
1998

**UNIVERSIDAD DE A CORUÑA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA**

TESIS DOCTORAL

*Efecto de la carrera continua sobre el
cartílago articular de ratas jóvenes*

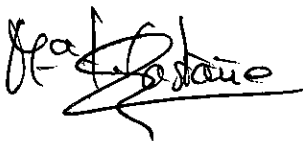
**Miguel Ángel Saavedra García
1998**

Dña. María Teresa Castaño Oreja, profesora titular de Anatomía Humana de la Facultad de Medicina de Santiago de Compostela y D. Manuel Avelino Giráldez García, profesor titular de Anatomía Humana del Instituto Nacional de Educación Física,

CERTIFICAN:

Que el licenciado en Educación Física D. MIGUEL ÁNGEL SAAVEDRA GARCÍA ha realizado, bajo su dirección, el trabajo titulado "EFECTO DE LA CARRERA CONTINUA SOBRE EL CARTÍLAGO ARTICULAR DE RATAS JÓVENES", el cual reúne todas las condiciones para ser defendido y optar al grado de DOCTOR EN CIENCIAS DE LA ACTIVIDAD FÍSICA Y EL DEPORTE.

En Santiago de Compostela, a 30 de abril de 1998. En A Coruña, a 30 de abril de 1998.



Fdo.: M.T. Castaño Oreja



Fdo.: M.A. Giráldez García

A mi madre, por su amor, su cariño, su apoyo y su amistad, que parecen no tener fin, creciendo día a día.

A mi padre, por apoyar las decisiones importantes de mi vida y ayudarme a resolverlas con su incansable disposición

A mi hermana, por traer al mundo y a nuestras vidas una gran ilusión, María.

A la memoria de mi abuelo, sus recuerdos son parte importante de los pilares de mi existencia.

A la memoria de mi abuela, porque su única preocupación era su familia.

A la memoria de Felipe, porque su recuerdo me ayuda a no equivocarme.

A Manolo, porque él y su familia ocupan, y siempre ocuparán, un lugar importante en mi vida y en mis recuerdos.

Al resto de mis amigos, que me ayudan a vivir con ilusión.

El trabajo experimental de esta tesis se realizó en los laboratorios del *Departamento de Ciencias Morfológicas de la Facultad de Medicina de la Universidad de Santiago de Compostela.*

Mi más sincero agradecimiento:

Al profesor D. Manuel Avelino Giráldez García, por abrirme las puertas al mundo de la investigación y hacerme comprender el significado de cada una de sus dificultades, porque esta comprensión es la llave que nos conduce al trabajo metódico. Afrontarlo día a día teniéndolo como maestro y amigo, supone un trabajo que, sin duda, merece la pena. Su apoyo, su confianza, su completa entrega y generosidad, sus consejos y su amistad han contribuido a mejorar mi formación profesional y personal.

A la profesora Dña María Teresa Castaño Oreja, que abrió esta línea de investigación y me permitió trabajar a su lado, enseñándome con paciencia y conduciendo mi trabajo con dedicación y esmero. Su profundo conocimiento del tema, sus consejos, su trabajo y su entrega fueron imprescindibles en la realización de esta tesis.

Al profesor D. Francisco Javier Jorge Barreiro, porque como Decano de la Facultad de Medicina de la Universidad de Santiago primero y Director del Departamento de Ciencias Morfológicas en la actualidad, facilitó y apoyó la realización de esta tesis doctoral en el seno del citado departamento.

A todos los profesores, P.A.S. y becarios del Departamento de Ciencias Morfológicas de la Universidad de Santiago, porque su actitud abierta y amable me permitió sentirme como uno más. Especialmente a *D. Constantino Midón Martínez*, a *Dña. María de los Ángeles Rodríguez Cobos* y a *D. Isaac Manuel Fuentes Boquete*.

A mis compañeros del INEF de Galicia que, de una manera u otra, fueron tolerantes y comprensivos con mi dedicación a esta tesis doctoral. En especial a *D. Miguel Ángel González Valeiro*, a *D. José Manuel Cardesín Villaverde* y a *D. Rafael Martín Acero*, que sacrificaron parte de sus intereses personales para no ocupar mi tiempo.

Al Departamento de Medicina de la Universidad de A Coruña, porque en su seno se desarrolló el programa de doctorado que, en mi caso, culmina con la presentación de esta tesis. En especial a los *profesores D. Juan A. Suárez Quintanilla*, *D. Jorge Teijeiro Vidal* y *D. Francisco J. De Toro Santos*, porque hicieron fácil todo lo que dependió de ellos.

A mi familia, porque aunque este trabajo me ha impedido compartir con ellos un tiempo irrecuperable, siempre me apoyaron y me animaron para continuarlo. *A ellos y a mis amigos*, porque la escasa atención que de mi han tenido, siempre encontró la respuesta de su comprensión.

Índice

Índice:**I.- Justificación y objetivos, 1****II.- Introducción, 7****II.1.- La articulación sinovial, 11****II.2.- Cartilago articular, 26****II.2.1.- Constitución del cartilago articular, 28****II.2.1.1.- Distribución de las células y la matriz extracelular, 28****II.2.1.1.1.- Superficie articular, 31****II.2.1.1.2.- Línea de mineralización ("tidemark"), 35****II.2.1.1.3.- Unión osteocondral, 36****II.2.1.2.- Componentes de la matriz, 37****II.2.1.2.1.- Los colágenos, 38****II.2.1.2.2.- Los proteoglucanos, 50****II.2.1.2.3.- Otras glucoproteínas, 62**

Fibronectina, 62

Condronectina, 67

Tenascina, 68

II.2.1.3.- Componente celular, 70**II.2.2.- Interacción célula-matriz, matriz-célula en la organización de los tejidos, 74****II.2.3.- Metabolismo del cartilago articular, 76****II.2.3.1.- Biosíntesis de macromoléculas, 79****II.2.3.2.- Degradación de macromoléculas, 81****II.2.3.3.- Mantenimiento de la matriz y regulación del metabolismo, 89****II.2.4.- Propiedades biomecánicas del cartilago articular, 93****II.2.4.1.- El agua, 95****II.2.4.2.- Los proteoglucanos, 96****II.2.4.3.- El colágeno, 98****II.2.5.- Influencia de la edad, las condiciones mecánicas y la osteoartrosis sobre el cartilago articular, 105****II.2.5.1.- Variaciones morfológicas, bioquímicas y biomecánicas con la edad, 105**

- II.2.5.2.- Variaciones morfológicas, bioquímicas y biomecánicas producidas por las condiciones mecánicas, 110
- II.2.5.3.- Variaciones morfológicas, bioquímicas y biomecánicas en la osteoartritis, 120
- II.2.6.- Ejercicio y cartilago articular, 126
 - II.2.6.1.- Efectos de los impactos repentinos y las fuerzas de torsión sobre el cartilago articular, 127
 - II.2.6.2.- Estudios experimentales de los efectos del ejercicio sobre las articulaciones, 130
 - II.2.6.2.1.- Articulaciones normales, 130
 - II.2.6.2.2.- Articulaciones anormales, 144
 - II.2.6.3.- Estudios clínicos de los efectos del ejercicio sobre las articulaciones, 147

III.- Material y métodos, 153

- III.1.- Animales, 155
 - Distribución en grupos, 155
 - III.2.- Entrenamiento, 156
 - III.3.- Obtención y procesamiento de las muestras, 157
 - III.3.1.- Obtención del cartilago articular y del hueso subcondral, 157
 - III.3.2.- Obtención del fémur, 157
 - III.4.- Procesamiento para microscopía óptica, 158
 - III.4.1.- Tinción con Hematoxilina férrica-Fast green-Safranica O (HFS), 158
 - III.4.2.- Tinción con Hematoxilina férrica - Escarlata de Biebrich - Azul de picroanilina (HEA), 159
 - III.5.- Organización y diseño de la obtención y tratamiento de los datos, 160
 - III.5.1.- Estudio del patrón normal de crecimiento de los animales y el efecto del ejercicio sobre el mismo, 160
 - III.5.1.1.- Variables de estudio, 161
 - III.5.1.2.- Metodología de trabajo, 162
 - III.5.1.3.- Diseño estadístico, 162
-

- III.5.2.- Estudio para la caracterización de las regiones del cartilago articular, 163
 - III.5.2.1.- Variables de estudio, 164
 - III.5.2.2.- Metodología de trabajo, 164
- III.5.3.- Estudio de la longitud y la curvatura de la superficie articular, 164
 - III.5.3.1.- Variables de estudio, 165
 - III.5.3.2.- Metodología de trabajo, 165
 - III.5.3.3.- Diseño estadístico, 166
- III.5.4.- Estudio del grosor y la celularidad del cartilago articular, 166
 - III.5.4.1.- Variables de estudio, 167
 - III.5.4.2.- Metodología de trabajo, 168
 - III.5.4.3.- Diseño estadístico, 171
- III.5.5.- Estudio cualitativo del cartilago articular, del cartilago epifisario y del compartimento subcondral, 171
 - III.5.5.1.- Variables de estudio, 172
 - III.5.5.2.- Metodología de trabajo, 174

IV.- Resultados, 175

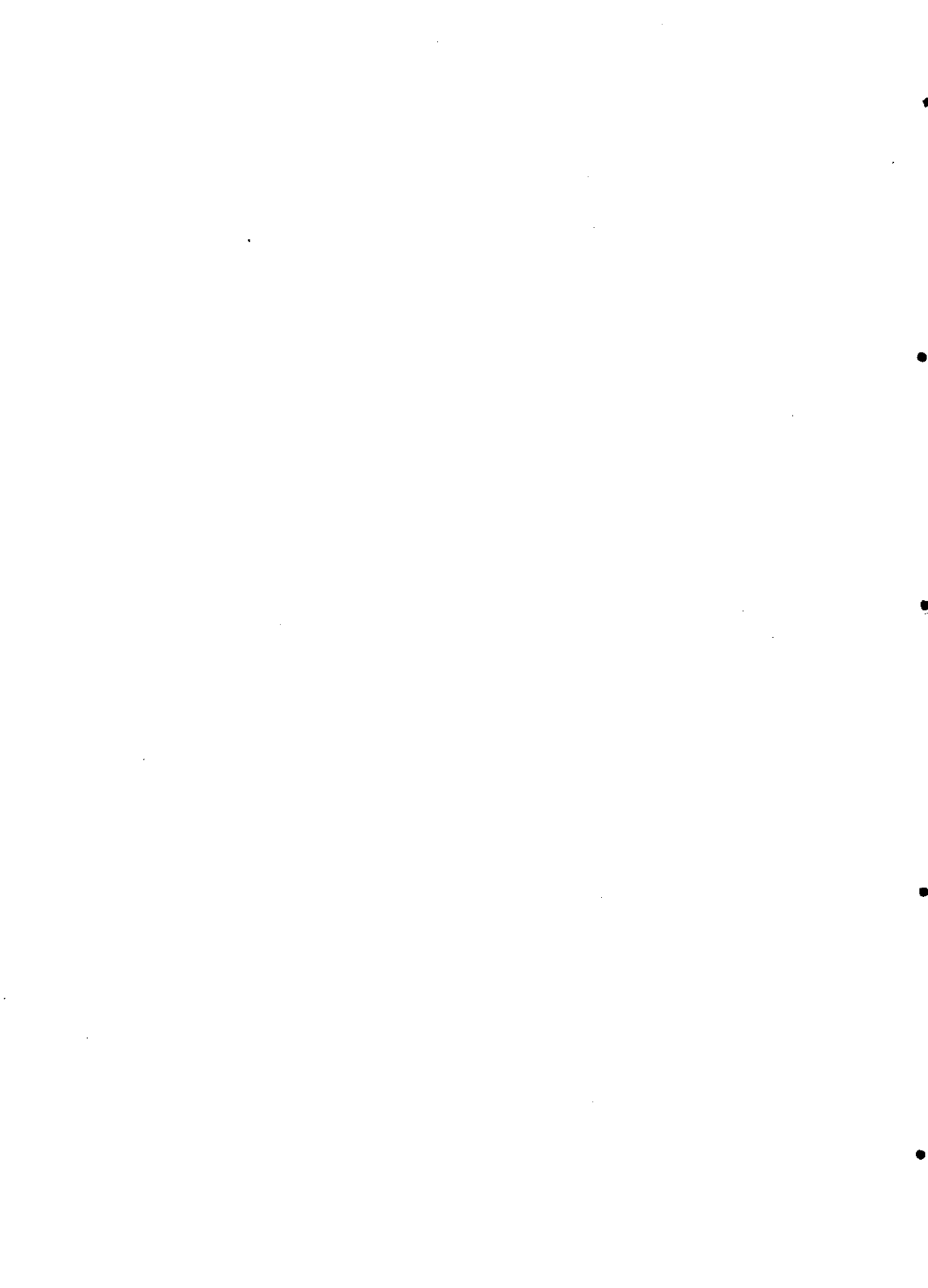
- IV.1.- Estudio del patrón de crecimiento, 177
 - IV.1.1.- Variables de estudio, 177
 - IV.1.2.- Estudio por grupos, 177
 - IV.1.2.1.- Grupo control, 177
 - IV.1.2.2.- Grupo entrenado, 178
 - IV.1.2.3.- Diferencias entre el grupo control y el grupo entrenado, 179
 - Antes de iniciar el proceso de entrenamiento, 179
 - Finalizado el proceso de entrenamiento, 180
 - IV.1.2.4.- Estudio longitudinal del peso (g), la longitud (cm), la comida (g), y la bebida (cm³), 181
 - IV.2.- Estudio para el establecimiento de la división del cartilago articular en regiones morfofuncionales distintas, 184
 - IV.3.- Estudio de la longitud y la curvatura de la superficie del cartilago articular, 186
 - IV.3.1.- Variables de estudio, 186
-

- IV.3.2.- Estudio por grupos, 187
 - IV.3.2.1.- Grupo control, 187
 - IV.3.2.2.- Grupo entrenado, 189
 - IV.3.3.- Estudios comparativos, 190
 - IV.3.3.1.- Comparaciones regionales, 191

 - IV.4.- Estudio del grosor y la celularidad del cartílago articular, 193
 - IV.4.1.- Variables de estudio, 193
 - IV.4.2.- Grupo control, 194
 - IV.4.2.1.- Comparaciones intragrupo, 195
 - IV.4.3.- Grupo entrenado, 197
 - IV.4.3.1.- Comparaciones intragrupo, 198
 - IV.4.4.- Comparación por regiones entre grupos control y entrenado, 200
 - IV.4.4.1.- Región 1, 200
 - IV.4.4.2.- Región 2, 202
 - IV.4.4.3.- Región 3, 203
 - IV.4.4.4.- Región 4, 204

 - IV.5.- Estudio cualitativo de los cartílagos articular y epifisario, y del compartimento subcondral, 206
 - IV.5.1.- Grupo control, 206
 - IV.5.1.1.- Cartílago articular, 206
 - IV.5.1.1.1.- Definición zonal por regiones, 206
 - IV.5.1.1.2.- Características estructurales, 208
 - IV.5.1.1.3.- Apetencias tintoriales de la matriz extracelular, 209
 - IV.5.1.2.- Cartílago epifisario, 209
 - IV.5.1.2.1.- Características estructurales, 209
 - IV.5.1.2.2.- Apetencias tintoriales de la matriz extracelular, 210
 - IV.5.1.3.- Compartimento subcondral, 210
 - IV.5.2.- Grupo entrenado, 211
 - IV.5.2.1.- Cartílago articular, 212
 - IV.5.2.1.1.- Definición zonal por regiones, 212
 - IV.5.2.1.2.- Características estructurales, 217
 - IV.5.2.1.3.- Apetencias tintoriales de la matriz extracelular, 219
 - IV.5.2.2.- Cartílago epifisario, 221
 - IV.5.2.2.1.- Características estructurales, 221
 - IV.5.2.2.2.- Apetencias tintoriales de la matriz extracelular, 222
-

IV.5.2.3.- Compartimento subcondral,	222
IV.5.3.- Comparación entre grupos,	223
V.- Discusión,	225
V.1.- Patrón de crecimiento,	228
V.2.- División del cartilago articular en regiones morfofuncionales distintas,	231
V.3.- Superficie articular del cóndilo,	232
V.4.- Características histológicas del cartilago articular,	233
V.5.- Características histológicas del cartilago epifisario y del hueso subcondral,	255
Epílogo,	259
VI.- Conclusiones,	263
VII.- Bibliografía,	269
Anexo I: Iconografía,	I/1
Grupo control,	I/2
Grupo entrenado,	I/5
Detalles morfológicos,	I/8
Anexo II: Abreviaturas,	II/1



I.- Justificación y objetivos

I.- Justificación y objetivos

Cada vez es más generalizada y está más aceptada la idea de que el ejercicio regular puede aumentar la salud y posibilitar una mayor longevidad [PAFFENBARGER y cols., 1986; LANE y cols., 1987; HASKELL, 1988; BLAIR y cols., 1992; FRIES y cols., 1994]. Este convencimiento unido a la sensación de bienestar físico y psíquico que comúnmente reporta la actividad física, están provocando un aumento del número de personas de todas las edades que practican algún tipo de ejercicio. En la mayor parte de los casos, las personas gozan de articulaciones sanas, consideradas normales, y está por ver si su participación en diferentes deportes o programas de actividad física podría aumentar el riesgo para desarrollar una enfermedad articular degenerativa. Sin embargo, cuando ya existe una patología degenerativa de las articulaciones, por muy incipiente que sea, resulta imprescindible establecer qué tipos de actividad física podrían acelerar la progresión de las enfermedades y cuáles mantendrían y/o posibilitarían un incremento de la movilidad.

Los estudios sobre la relación entre el ejercicio y la artrosis sugieren que, al menos, algunos tipos de uso repetitivo de las articulaciones contribuyen al desarrollo de enfermedad articular degenerativa. En este sentido, se han realizado estudios en grupos de individuos con ocupaciones que exigen considerables esfuerzos físicos, incluyendo a granjeros, trabajadores de la construcción, del metal y mineros [LANE y BUCKWALTER, 1993; BUCKWALTER y cols., 1995]; y los resultados indican que la carga repetitiva intensa de las articulaciones podría conducir a un comienzo temprano de la degeneración articular. Entre las actividades laborales específicas que se han asociado con la artrosis, se incluyen el levantamiento o transporte repetitivo de objetos pesados, la adopción de posturas inadecuadas en el trabajo, la vibración, los movimientos repetidos continuamente, y el trabajo rápido determinado por una máquina [HELIOVAARA y cols., 1993]. En el ámbito deportivo, algunos estudios sugieren que la participación en deportes competitivos aumenta el riesgo de artrosis, estableciendo una relación clara entre una actividad física vigorosa y la aparición de artrosis [LANE & BUCKWALTER, 1993; KUJALA y cols., 1994, 1995; BUCKWALTER y cols., 1995; VINGARD y cols., 1995]. En sentido contrario, otros estudios demuestran que muchos individuos pueden practicar deporte durante toda su vida sin desarrollar artrosis clínicamente aparente [BUCKWALTER, 1995; BUCKWALTER y cols., 1995] y, para mayor abundamiento, trabajos experimentales recientes muestran que el uso articular regular durante la vida no conduce al desgaste de la superficie articular [NEWTON y cols., en prensa].

Los trabajos experimentales realizados con la intención de averiguar las repercusiones del ejercicio físico sistematizado sobre el cartilago articular han obtenido conclusiones diferentes. La falta de uniformidad en las condiciones de los sujetos y en las características del entrenamiento, hacen que los resultados sean desiguales. Dependiendo de la cantidad y la duración del ejercicio se han encontrado aumentos y disminuciones en el grosor del cartilago articular, en el contenido de los proteoglicanos matriciales y en la resistencia a la indentación.

En este contexto, las diferentes experiencias obtienen resultados que aparentemente son opuestos y que sus autores interpretan como variaciones "benignas" o adaptaciones del cartilago al ejercicio. De igual manera, se puede comprobar que la mayor parte de los estudios se centran en la obtención de datos de una forma mecanizada o automatizada, mediante la utilización de tecnologías vanguardistas, sin detenerse a observar meticulosamente la morfología del cartilago.

Por otro lado, el estudio del cartilago articular recibe un tratamiento homogéneo, sin tener en cuenta su caracter anisotrópico y que en una misma superficie articular pueden identificarse regiones que mecánica y morfológicamente son muy diferentes. Este planteamiento lleva a los autores a considerar que cualquier cambio observado se refiere a la totalidad del cartilago y que todo él responde según un patrón único de comportamiento. Sin embargo, parece lógico pensar que, dada la heterogeneidad regional del cartilago, las respuestas no debieran ser tan homogéneas, siendo imprescindible un estudio mas profundo para averiguar la repercusión del ejercicio sobre todas y cada una de las regiones anatómo-funcionales, basándose en el supuesto de que si las condiciones mecánicas son distintas, las consecuencias del ejercicio físico sobre cada una de ellas tendrán que ser de diferente naturaleza e intensidad.

Teniendo en cuenta todo lo expuesto, nuestro propósito en este trabajo será averiguar la influencia del ejercicio físico sobre el cartilago articular del *cóndilo femoral interno de la rodilla izquierda de las ratas*, para lo cual, hemos establecido los siguientes **objetivos**:

- Primero.-** Obtener el patrón normal de crecimiento de las ratas (peso, longitud corporal, longitud ósea y alimentación) y el efecto del ejercicio físico sobre el mismo.
 - Segundo.-** Establecer una división del cartilago articular en regiones morfofuncionales distintas.
-

- Tercero.-** Estudiar la longitud y la curvatura de la superficie articular completa y de cada una de las regiones morfofuncionales del cartilago articular, así como el efecto del ejercicio físico sobre las mismas.
- Cuarto.-** Establecer las características histológicas normales para cada una de las regiones morfofuncionales del cartilago articular (grosor, celularidad, definición zonal, características estructurales y apetencias tintoriales) y sus variaciones con el ejercicio físico.
- Quinto.-** Estudiar las características histológicas normales del tejido cartilaginoso epifisario (agrupamiento celular, estratificación y apetencias tintoriales) y del hueso subcondral (organización trabecular, presencia de tejido osteoide e interdigitaciones osteocondrales) en cada una de las regiones morfofuncionales del cartilago articular y su variación con el ejercicio físico.
-

II.- Introducción

II.- Introducción

La evolución de los seres vivos trajo como consecuencia el paso de los primeros y más simples organismos unicelulares a un estado más moderno y complejo representado por los organismos pluricelulares eucariotas. Para aquellos organismos, constituidos por una célula aislada e independiente cada uno, no resultaba excesivamente complicado llevar a cabo todas sus funciones vitales en un medio líquido que facilitaba, en todo momento, el contacto de cualquier punto de la membrana celular con el ambiente. Sin embargo, todo se complica cuando las colonias celulares comienzan a organizarse en estructuras pluricelulares. Ahora, no todas las células tienen contacto directo con el medio y, por lo tanto, han de establecerse las fórmulas más adecuadas para que todas ellas, sin excepción, puedan recibir los nutrientes necesarios para su metabolismo y eliminar los desechos que se produzcan.

La forma más sencilla de solventar este "problema" es mediante la dedicación de unas cuantas células de ese organismo a dichas labores. Pero no hay que olvidar que el mantenimiento de la vida supone la realización de un número de tareas mucho mayor que las ya mencionadas. Es así, que los principios de economía de la Naturaleza imponen la solución más razonable: la **especialización celular**, a través de una diferenciación progresivamente mayor de los elementos celulares, en funciones vitales concretas. De esta manera, como ya es conocido, las células se organizan en tejidos, éstos en órganos, etc., hasta formar un organismo pluricelular que constituya una unidad biológica. La unidad biológica supone que las células del organismo forman "un todo funcional" que puede ser reconocido como "un todo morfológico". En otras palabras, el fisiologismo de las diversas células ha de estar perfectamente coordinado y éstas han de adoptar un lugar, más o menos estable, en el volumen del organismo pluricelular que permita reconocer la forma habitual y percedera de éste en el espacio.

Para el desarrollo y consecución de estas estrategias organizativas fue fundamental la unión entre las células; en la mayoría de los animales se consigue bien por el desarrollo de sistemas de unión entre las membranas plasmáticas, o bien, por la formación de redes, más o menos laxas, de macromoléculas extracelulares que constituyen la denominada **matriz extracelular** [VALENTINE, 1978]. Con el estudio de esta segunda posibilidad iniciamos un análisis inductivo cuya síntesis culminará con la aparición de un grupo celular con una función concreta: el **tejido conjuntivo**.

Cayendo en la tentación de hacer una pequeña abstracción filosófica, podríamos concluir que la evolución de las formas y de las diferentes estructuras desde

la aparición de los primeros organismos pluricelulares eucariotas ha tenido como resultado la producción de la matriz extracelular [ROBERT y LABAT-ROBERT, 1986].

La matriz extracelular desempeña en los animales un complejo y activo papel sobre la regulación del comportamiento de las células. Actúa sobre el desarrollo, forma, proliferación, migración y funciones metabólicas celulares [HAY, 1982]. Es evidente que todo ello dista mucho de la mera función de nexo inerte que clásicamente se le atribuía y que únicamente significaba un aporte de estabilidad física para los tejidos.

La trama de proteínas y polisacáridos que componen la matriz extracelular es sintetizada por células que se localizan en su seno, de tal manera que ambos, células y matriz, constituyen una unidad biológica de gran versatilidad a la que comúnmente se conoce con el nombre de *tejido conjuntivo*.

Durante el desarrollo embrionario y como un episodio casi universal en el reino animal, el proceso de gastrulación transforma la blástula, simple pelota hueca de células, en una estructura pluriestratificada, con un eje central y simetría bilateral. Las tres capas germinales primarias, comunes a todos los animales superiores son: la capa más interna, el *endoblasto*, del que derivará el tubo intestinal primitivo; la capa más externa, el epitelio que ha permanecido en la parte exterior, el *ectoblasto* y, entre ambos, la capa de tejido más laxo, el *mesoblasto*, precursor del tejido conjuntivo. [ALBERTS, 1983]

En general, los tejidos conjuntivos derivan del mesoblasto a través de una red laxa y tridimensional de células conocida como *mesénquima*. Con posterioridad, de esta red derivarán todas las formas del tejido conjuntivo: óseo, cartilaginoso, etc.

El tejido conjuntivo, derivado del mesénquima embrionario, es un elemento constante y fundamental para la organización del organismo animal, ya que proporciona un adecuado soporte, tanto metabólico como estructural a otros tejidos de la economía.

Sus dos componentes, *celular* y *matricial*, interactúan influyéndose recíprocamente para conseguir el equilibrio que aporte la respuesta más apropiada a las demandas funcionales de cada momento. Por lo tanto, resulta obvio que las formas de presentación del tejido conjuntivo sean tan diversas como las circunstancias funcionales que las condicionan. De este modo, el aspecto y estructura del tejido conjuntivo varían en el organismo animal desde formas laxas hasta modalidades tan altamente diferenciadas como el cartílago, los tendones, las láminas basales, los huesos, etc.

Las demandas funcionales son las que inducen la variación en las proporciones de los componentes de la matriz; así, veremos cómo el tejido conjuntivo puede llegar a formar estructuras de una alta organización casi cristalina como la córnea, o presentar una consistencia fibrosa resistente a las tracciones en el tendón e incluso calcificarse adquiriendo una mayor resistencia física en el hueso.

II.1.- La articulación sinovial.

Desde el momento en que el movimiento se hace necesario para la subsistencia de los seres vivos, se inicia en éstos el desarrollo de sistemas de locomoción, cuyo grado de sofisticación se corresponde con el lugar que dichos seres ocupan en la escala evolutiva. En los vertebrados, obedeciendo a las demandas funcionales, el tejido conjuntivo evoluciona hacia la formación de estructuras con distintos grados de diferenciación. Como resultado de ésta se forman elementos anatómicos tales como los huesos, ligamentos, cartilago, tendones, etc. La combinación de estos elementos constituye el esqueleto articulado que, junto con los músculos, integran el *aparato locomotor*, que no puede considerarse al margen del sistema nervioso, lo que conduce a la definición del "*sistema motor*" como el conjunto de órganos motores y los circuitos nerviosos que los controlan [SHEPHERD, 1983]. Bien es cierto que la locomoción no es su única función, pero sí es el aspecto que principalmente interesa en nuestro estudio.

Las articulaciones pueden definirse como el lugar donde se reúnen o entran en contacto dos o más piezas óseas o cartilaginosas [PATURET, 1951].

El término "*elemento anatómico*" se emplea para designar a toda pieza o porción de un aparato que presenta una constitución, estructura histológica y desempeña un papel fisiológico determinados [PATURET, 1951]. En el caso de los elementos anatómicos que integran una articulación, aunque por definición son diferentes, no dejan de estar íntimamente emparentados basándose en su origen o procedencia y, en segunda instancia, en su arquitectura, que responde a unos mismos principios en todos ellos. Esto puede apreciarse con claridad al observar como los componentes de un elemento anatómico se continúan con los de otro sin existir límites de demarcación netos entre ambos. Quizás pueda ser aventurado, pero resulta al menos tentador el establecer una relación entre lo expuesto y la similitud entre las formas de reacción, ya que todos los elementos de una articulación participan en la respuesta ante una noxa.

Para comprender el significado estructural y funcional de la articulación es necesario el estudio de su desarrollo ontogénico. Sin embargo, un análisis detallado

resultaría excesivo para los propósitos de este trabajo, por lo que sólo esbozaremos los *aspectos fundamentales del desarrollo de las diartrosis*:

Los esbozos cartilagosos de dos piezas óseas que se van a articular entre sí están primitivamente en contacto por intermedio de una zona de tejido indiferenciado, denominada *zona intermediaria o disco intermediario de Hencke*, que está formada por tres porciones: una *capa intermedia* constituida por tejido indiferenciado de naturaleza mesenquimatoso y dos porciones extremas yuxtacartilagosas formadas por tejido condrógeno, las *capas condrógenas*, que no están limitadas a la región de la futura articulación sino que rodean completamente a la maqueta cartilaginosa del hueso. [PATURET, 1951]

En el curso del crecimiento óseo, la capa condrógena que está directamente aplicada contra el cartilago se transforma uniformemente en cartilago hialino, al mismo tiempo que las extremidades óseas enfrentadas se aproximan entre sí. [PATURET, 1951]

Todas las articulaciones, cualquiera que sea el grupo al que pertenecieren, pasan por este estadio inicial. Son las transformaciones ulteriores de la capa media mesenquimatoso y a veces su desaparición completa lo que resulta en la constitución de tal o cual tipo de articulación. La capa condrógena del disco intermediario transformada en cartilago contribuye al crecimiento longitudinal del hueso, mientras que la capa condrógena periférica contribuye a su ensanchamiento. [PATURET, 1951]

De todo ello pueden deducirse dos hechos anatómicos:

- La totalidad de la capa condrógena se transforma en cartilago hialino.
- El esbozo cartilaginoso del hueso es invadido por el tejido óseo que sustituye al cartilago, con la excepción del cartilago de revestimiento de las superficies articulares, que permanecerá como una reliquia de la maqueta cartilaginosa primitiva.

Durante el desarrollo de las diartrosis toda la capa intermedia se transforma en cartilago hialino. Pero inmediatamente antes de que el tejido condrógeno sufra la transformación cartilaginosa se produce una fisuración transversal en el espesor de la capa media del disco intermediario. Esta fisuración comienza en la periferia para invadir después la porción central, originándose así la hendidura articular o futura cavidad articular [TAKA-BATAKE y YAMAMOTO, 1991].

La aparición de la hendidura articular se verá favorecida por las tracciones (tan débiles como se quiera pero sin embargo eficaces) que ejercen los esbozos musculares sobre las extremidades articulares de las piezas esqueléticas [MITROVIC, 1982; RUANO-GIL y cols., 1985; CARTER y cols., 1987; CARTER y WONG, 1988; LLUSA-PÉREZ y cols., 1988].

Cuando se trate del desarrollo de articulaciones con superficies discordantes se produce una doble fisuración de la capa media y, por consiguiente, dos hendiduras o cavidades articulares. La porción comprendida entre ambas hendiduras dará lugar a un menisco completo (disco interarticular), a un menisco doble intraarticular (fibrocartilagos semilunares de la rodilla) o bien a un rodete marginal o periarticular (rodetes glenoideo y cotiloideo) cuando tan sólo persiste un anillo periférico completo.

La *cápsula*, los *ligamentos (ligamentos intrínsecos)* y la *sinovial* derivan de una diferenciación de la capa mesenquimatosa que rodea la futura articulación, es decir, que se extiende todo alrededor del disco intermediario de Hencke [MITROVIC, 1977, 1982; LINCK y PORTE, 1978a-b; OKADA y cols., 1981; RUANO-GIL y cols., 1985; LLUSA-PÉREZ, 1988].

Los ligamentos aparecerán muy precozmente, aunque todavía no exista la hendidura articular. Ciertos ligamentos, denominados *ligamentos extrínsecos*, son inserciones tendinosas modificadas (ligamento coracohumeral) o reliquias de músculos desaparecidos (ligamentos estilomaxilar y estilohioideo).

La *sinovial* (estrato sinovial) se diferencia a expensas de la capa profunda del manguito capsular primitivo con la cual se une y adhiere en el adulto. Sus límites están en estrecha relación con el desarrollo que adquiere la hendidura articular y la aparición de un menisco interarticular.

Las *diartrosis* son las articulaciones consideradas como las más perfeccionadas del organismo, tanto desde el punto de vista anatómico como fisiológico. La mayor parte de las articulaciones de los miembros representan un ejemplo de ellas. Se caracterizan por la posesión de una cavidad articular que permite el desplazamiento de las palancas óseas; de ello se deriva la capacidad de movimiento que les es propia. Los elementos óseos ofrecen superficies de contacto, denominadas *superficies articulares*, siempre lisas, con formas comparables a superficies geométricas y que en los huesos largos se sitúan en las epífisis. Su forma y la función mecánica son las bases para la

clasificación de las diartrosis.

Sea cual fuere el aspecto de las superficies articulares, planas (artrodias), en segmentos de elipse u ovoides (condíleas), en polea (trocleares), en segmentos de esfera (enartrosis) o en segmentos de cilindro (trocoideas), casi siempre son superficies concordantes que encajan recíprocamente.

Cada superficie articular aparece recubierta por un cartílago de revestimiento, el *cartílago articular* de tipo hialino, cuya superficie es libre, lisa y de coloración gris azulada, pálida y opalescente, y se encuentra continuamente bañada por el líquido sinovial. Es una estructura flexible y compresible, que se deja deformar por las enormes presiones que soporta para recuperar enseguida su forma primitiva y su espesor original (espesor de reposo de Poirier) [POIRIER, 1931]. El cartílago articular posee características estructurales, funcionales y fisiológicas muy particulares, sobre las que nos detendremos especialmente en su momento, ya que constituye el objeto fundamental de nuestro estudio.

En aquellas articulaciones en que las superficies articulares son discordantes, bien por diferencias de forma o de tamaño, existen unos elementos anejos de naturaleza fibrocartilaginosa cuya función es la de restablecer el equilibrio entre las superficies. Estas estructuras son de dos tipos, los meniscos intra o interarticulares y los rodetes periarticulares, que nunca coexisten en una misma articulación.

Son varios los elementos y factores que intervienen para que las superficies articulares permanezcan en contacto. En primera instancia, los comúnmente denominados medios de unión articulares: el complejo cápsulo-ligamentoso y los ligamentos. En segundo lugar, los músculos situados periarticularmente, cuyas acciones tónica y fásica contribuyen a la estabilidad articular. Por último, citaremos las fuerzas de adherencia que se producen entre las superficies articulares, la presión atmosférica y el propio peso corporal, quienes también participan en dicho cometido aunque quizás de una manera secundaria.

La *cápsula* de las diartrosis se presenta, de forma habitual, como un manguito fibroso que se extiende entre los elementos óseos, continuándose con el periostio de éstos. El punto donde la cápsula se confunde con la porción fibrosa del periostio, clásicamente denominado punto de inserción, suele localizarse a una distancia de la superficie articular que varía en las diferentes articulaciones. De este modo, puede insertarse bien en su inmediata proximidad o bien a cierta distancia, siendo esta se-

gunda forma de inserción la habitual en las articulaciones que presentan una mayor movilidad.

El espesor y, por lo tanto, la resistencia y la flexibilidad de la cápsula articular varían entre las distintas articulaciones y entre diferentes zonas de una misma articulación.

En cuanto a la estructura de la cápsula, que corresponde a la del tejido conjuntivo denso, es rica en fibras colágenas y elásticas, mientras que es relativamente pobre en células, fibroblastos, que se disponen entre las fibras. En ocasiones se observa que las fibras colágenas más superficiales se disponen longitudinalmente, mientras que las más profundas discurren en direcciones oblicuas. Estas orientaciones responden a la dirección de las fuerzas que actúan sobre la cápsula articular, y son estas mismas fuerzas las que inducen el desarrollo de engrosamientos capsulares localizados en aquellas zonas sometidas a un mayor esfuerzo. Estos engrosamientos son visibles en la cara externa de la cápsula y se denominan **ligamentos intrínsecos o fascículos capsulares de refuerzo**. Los ligamentos intrínsecos, al igual que el resto de la cápsula articular, poseen una rica inervación sensitiva propioceptiva que permite regular la postura y actitud articulares.

También se consideran medios de unión articulares a los ligamentos no capsulares o aislados (**extrínsecos**), entre los cuales y por su situación, se distinguen los **ligamentos interóseos** y los **ligamentos a distancia**. Los primeros se extienden entre las superficies articulares (articulación de la rodilla); en el segundo caso, se sitúan en una posición más alejada de la articulación y suelen ser vestigios de músculos involucionados (ligamento estilomaxilar, ligamento esfeno maxilar).

En ciertas diartrosis se observan ligamentos no capsulares, pero que sí entran en contacto con la cápsula y que no son otra cosa que la expansión terminal del tendón de un músculo próximo a la articulación. Cuando esto es así, la contracción muscular, transmitida a través del tendón, produce el tensado del ligamento (ligamento poplíteo oblicuo de la rodilla).

El interior de la cápsula y el hueso intracapsular no recubierto de cartilago, están tapizados por una fina **membrana denominada sinovial** [BICHAT, 1802; COLLINS, 1949], formada por un tejido característico derivado del mesénquima embrionario [BARNETT y cols., 1961]. Reviste las partes no cartilaginosas de las articulaciones sinoviales, las bolsas sinoviales y las vainas sinoviales de los tendones,

regiones donde la función esencial de los tejidos supone un movimiento entre planos contiguos.

En las articulaciones la membrana, denominada simplemente "sinovial", tapiza la cápsula fibrosa y reviste cualquier superficie ósea, ligamentosa o tendinosa, cuya situación sea intracapsular, de tal forma que recubre todas las estructuras articulares excepto el cartilago articular y los meniscos fibrocartilagosos [COLLINS, 1949]. El comportamiento de la sinovial es muy particular en aquellas diartrosis que, como la rodilla, poseen ligamentos interóseos y meniscos. En el primer caso la sinovial recubre los ligamentos interóseos de manera que éstos quedan excluidos de la cavidad articular. Con respecto a los meniscos, la sinovial se detiene en los márgenes de los bordes periféricos de éstos [DAVIES, 1950; DAVIES y PALFREY, 1971], donde toma inserción la cápsula. Así pues, la cavidad articular (virtual) queda limitada entre la sinovial y el cartilago articular.

La existencia de un menisco limita en la cavidad articular dos compartimentos, que permanecerán independientes o comunicados entre sí según se trate de un menisco completo o incompleto. Como consecuencia de esto, en el primer caso la situación del menisco resultaría interarticular (articulación temporomandibular) y en el segundo caso resultaría intraarticular (articulación de la rodilla).

A veces, la superficie interna de la membrana posee pequeñas proyecciones en forma de dedo, las **vellosidades sinoviales**. En otras partes la membrana está rechazada en forma de **pliegues y franjas** que se proyectan hacia el interior de la membrana sinovial. En muchas articulaciones son características las acumulaciones de tejido adiposo, **almohadillas o cojinetes grasos**.

A la hora de abordar su constitución anatómica y estructural, la sinovial es contemplada bajo dos puntos de vista sutilmente diferentes. Unos autores la consideran como la capa más interna de la cápsula articular, mientras que otros la definen como una membrana en la que se distinguen dos estratos estructuralmente diferentes: el más interno (articular), la **íntima**, y otro subyacente a éste, el **estrato subintimal o tejido subsinovial**, que llega a confundirse con la cápsula articular. En conclusión, la sinovial de los primeros se corresponde con la íntima de los segundos. Cabe la posibilidad de que esta segunda forma de concebir la sinovial sea reconocida en el momento en que el estudio de dicha membrana es llevado al campo de lo ultraestructural.

A pesar de que la sinovial tapiza un espacio corporal cerrado, no es un tejido epitelial y, por lo tanto, carece de membrana basal o cualquier otra barrera estructural entre el líquido sinovial y los vasos que la recorren [CLEMENT, 1989].

La subíntima o tejido subsinovial posee una matriz con una electrondensidad media en la que se distinguen fibras colágenas estriadas, fibras colágenas sin estriación e incluso material amorfo electrondenso en el que ocasionalmente se distinguen filamentos y partículas [GHADIALLY y ROY, 1966, 1969]. Las fibras colágenas se disponen profundamente, mientras que el material amorfo predomina en las zonas más superficiales y próximas a la cavidad articular. Las características estructurales de la subíntima difieren con la localización de la sinovial dentro de una misma articulación. Los tipos más característicos son dos: el *tipo fibroso*, rico en fibras colágenas dispuestas con orientaciones muy diversas y entre las que se encuentran escasos fibroblastos, y el *tipo adiposo*. Independientemente del tipo de subíntima, ésta posee también un número variable de macrófagos y células cebadas. La localización de un tipo u otro de tejido subsinovial en la articulación está relacionado con las exigencias mecánicas de las diferentes zonas. La zona capsular con un mayor estrés funcional estará revestida de sinovial del tipo fibroso, mientras que la sinovial adiposa se localiza, generalmente, en zonas con menor demanda.

Las franjas sinoviales laminares están provistas de un eje conjuntivo de tipo fibroso, mientras que en las filiformes y en los propios villi, el eje es un tejido conjuntivo areolar [LEACH y cols., 1988].

La íntima sinovial, adyacente a la cavidad articular, está integrada por células independientes inmersas en una matriz laxa de baja electrondensidad. La disposición celular varía con la zona de sinovial observada y no existe una lámina basal que separe netamente la íntima de la subíntima [GHADIALLY, 1981].

Las células de la íntima, sinoviocitos, no tienen una distribución constante. Se suelen disponer en capas de 2 o 3 células de profundidad en la sinovial situada entre vellosidades, mientras que en la íntima de la propia vellosidad las células están mucho más dispersas, de tal manera que existen zonas de matriz en contacto directo con la cavidad articular [BASSLEER y cols., 1982] o separada de ésta únicamente por las prolongaciones celulares de los sinoviocitos [LEACH y cols., 1988].

BARLAND y cols. [1962] describieron dos tipos de células sinoviales cuya existencia ha sido confirmada por otros autores [GHADIALLY y ROY, 1966, 1969;

GLEN-BOTT, 1972; KREY y COHEN, 1973; WATANABE y cols., 1974; FELL y cols., 1976; LINCK y PORTE, 1978a-b; HENDERSON, 1981; OKADA y cols., 1981; GRAABACK, 1982, 1984; LEACH y cols., 1988]. En todas las especies se distinguen, al menos, dos tipos de sinoviocitos:

- Los *sinoviocitos A, M o V*, que predominan en número, se sitúan superficialmente (en contacto con la cavidad articular) y presentan gran número de filopodios o lamelipodios que se extienden hacia la luz articular. El núcleo de estos sinoviocitos es irregular u oval con heterocromatina situada periféricamente. En el citoplasma ostentan gran número de vacuolas de diferentes tamaños, particularmente en los filopodios que se proyectan hacia la cavidad articular. Su tamaño es mayor cuanto más cerca del núcleo se encuentran. Unas vacuolas tienen aspecto de estar vacías, mientras que otras contienen material de diferentes densidades. Las mitocondrias son moderadas en tamaño y número y el RER está poco desarrollado e irregularmente dispuesto.
- Los *sinoviocitos B, F o S* tienen situado su cuerpo más profundamente que los anteriores y presentan una o dos proyecciones citoplasmáticas que se extienden en todo el grosor de la membrana para alcanzar el espacio articular [GHADIALLY y ROY, 1966; LINCK y PORTE, 1981; OKADA y cols., 1981; GRAABACK, 1982]. Su núcleo es similar al de los A, pero más eucromático. Las prolongaciones de los sinoviocitos B son menos numerosas y menos prominentes, del mismo modo que son escasas las vesículas pinocitóticas. El Golgi y, sobre todo, el RER están muy desarrollados y las mitocondrias son más grandes y con una matriz más densa que en los A. Las células de tipo B de todas las especies examinadas tienen vesículas secretoras cuya morfología es diferente para cada especie. En la rata y el ratón se tiñen intensamente y por ello se han denominado vesículas secretoras densas [LINCK y PORTE, 1978b, 1981; GRAABACK, 1982, 1984]. Estas vesículas secretoras densas son raras o están ausentes en las células tipo B humanas, del conejo y del cobaya [LINCK y PORTE, 1978b]. Esta diferencia en las propiedades tintoriales podría reflejar una diferencia en la composición del producto de secreción o en los mismos mecanismos secretorios.

Basándose en sus diferentes características morfológicas se les consideraba como células de estirpes distintas [HIROHATA y KOBAYASHI, 1964; KREY y cols., 1971], atribuyéndose a las células A una función únicamente fagocitaria ("*macrophage-like function*") [NORTON y cols., 1968; SOUTHWICK y BENSCH, 1971] y a las B sólo una función sintética y secretora ("*fibroblast-like function*") [BARLAND y cols., 1962; KREY y COHEN, 1973; GRAABACK, 1984]. Sin embargo, esto no dejaría de ser una afirmación ingenua por cuanto ignora el hecho de que una célula puede tener más de una función y que, en respuesta a diferentes estímulos, puede modular su estructura interna y cambiar sus funciones [ROY y cols., 1966; ROY y GHADIALLY, 1967; KREY y cols., 1971; GHADIALLY y cols., 1976a; WERB y REYNOLDS, 1985].

Probablemente, estas células no difieren en su origen y son un mismo tipo celular con múltiples posibilidades fenotípicas que permiten su clasificación teniendo en cuenta sus características morfológicas. Las diferencias morfológicas, por lo tanto, únicamente reflejan el momento funcional en que se encuentran al ser estudiadas [GHADIALLY, 1978; KREY y cols., 1971; SLEDGE, 1989].

Normalmente se ven pocas figuras mitóticas en la íntima sinovial y se cree que los sinoviocitos se reponen mediante la proliferación de las células del tejido subintimal [GHADIALLY, 1983].

Tanto en la sinovial humana como en la de otras especies las células de la íntima son libres y carecen de uniones celulares. Sin embargo, cuando están estrechamente empaquetadas, las células adyacentes pueden presentar interdigitaciones de sus membranas y uniones intercelulares [GHADIALLY, 1983]. Se ha descrito la formación de desmosomas entre las células intimales de sinoviales hiperplásicas, como sucede en las artritis traumáticas, artritis reumatoides y sinovitis vellonodulares [GHADIALLY y ROY, 1969; GHADIALLY, 1978].

La membrana sinovial tiene una red vascular más densa que la de la mayoría de los tejidos conectivos y está formada, en su mayor parte, por pequeñas vénulas [WILKINSON y EDWARDS, 1989].

Los capilares se localizan tanto al nivel de la subíntima, como en el ámbito de la misma íntima, próximos a la cavidad articular. Mientras que los capilares subintimales son de tipo continuo, los situados en la íntima son de tipo fenestrado, tal y como corresponde a un tejido donde se producen intercambios rápidos de líquido y solutos

[SUTER y MAJNO, 1964; FOLKMAN y cols., 1981; KNIGHT y LEVICK, 1983].

En algunas especies, como el conejo, se han observado cambios en la sinovial asociados con la edad tales como: reducción global de la población celular de la íntima sinovial, reducción estadísticamente significativa de las células tipo B, incremento relativo de las células tipo A, aparición de células pobremente dotadas de organelas, disminución de la vascularización e incremento de las fibras colágenas de la matriz [JILANI y GHADIALLY, 1986].

Para que el sistema nervioso pueda interactuar con un tejido específico se necesita una red o aporte nervioso adecuados. Los resultados de los estudios sobre la **inervación** de la membrana sinovial han sido controvertidos. Los métodos histológicos convencionales utilizados en estos estudios carecían de la resolución precisa para identificar las fibras nerviosas de pequeño diámetro [FREEMAN y WYKE, 1967; KENNEDY y cols., 1982]. FREEMAN y WYKE [1967] opinaban que la sinovial estaba pobremente inervada y era insensible al dolor. Otros autores [HALATA y GROTH, 1976] han sugerido una **inervación** más densa y predominantemente autonómica. Sin embargo, el desarrollo de las técnicas inmunohistoquímicas reveló que, inequívocamente, la sinovial humana estaba ricamente inervada [GRONDBLAD y cols., 1988; MAPP y cols., 1989]. Muchos nervios sinoviales de pequeño diámetro se mostraron inmunorreactivos para los neuropéptidos [MAPP y cols., 1989], incluyendo la SP ("*substance P*") y el CGRP ("*calcitonin gene-related peptide*"), ambos marcadores de fibras sensitivas, y el neuropéptido Y, encontrado en la mayoría de las neuronas noradrenérgicas periféricas. Las fibras nerviosas que contienen el neuropéptido Y se asociaban exclusivamente con estructuras vasculares. Aunque la SP y el CGRP también se encontraron en neuronas perivasculares, estaban presentes en muchas fibras nerviosas libres que se extendían a través de la sinovial hasta llegar casi a la superficie [MAPP y cols., 1989].

El **líquido sinovial** se encuentra en las cavidades de las articulaciones sinoviales y en las bolsas serosas y vainas de tendones, si bien, su composición en estos dos últimos lugares no ha sido investigada con precisión. El que se obtiene de las articulaciones es un líquido claro o amarillo pálido, viscoso y brillante, de un pH ligeramente alcalino en reposo (aunque disminuye en el ejercicio), que contiene una pequeña población mixta de células [BAUER y cols., 1940] y algunas partículas amorfas que presentan tinción metacromática. Su viscosidad, volumen y color varían ampliamente entre las distintas articulaciones y especies, y se ha demostrado la dificultad de correlacionar estas variaciones con una articulación particular o con el

tamaño, peso o tipo de ejercicio del animal estudiado. En el hombre su volumen es bajo hasta el punto de que, generalmente, se pueden aspirar menos de 0,5 ml de una articulación grande como la rodilla.

Como ocurre en otros casos, ha sido más estudiado el líquido sinovial en circunstancias patológicas que en circunstancias de normalidad, ya que en este último caso no suele analizarse. La gran acumulación de datos hecha por ROPES y BAUER [1953] y su tratado son, todavía hoy, un valor de referencia.

El líquido sinovial normal se considera generalmente como un ultrafiltrado del plasma. Sin embargo, el filtro es imperfecto, permitiendo el paso no sólo de electrolitos y otros solutos de pequeño tamaño sino también de una representación significativa de proteínas plasmáticas. [WEINBERGER y SIMKIN, 1989]

El líquido sinovial es, por lo tanto, un filtrado del plasma que pasa a través de los capilares sinoviales hacia el espacio extracelular, donde se une al ácido hialurónico que es secretado por células sinoviales y alcanza un equilibrio con el líquido libre en la cavidad articular. Los niveles de transferencia desde los capilares hasta el líquido intersticial y de difusión a través del tejido se ven afectados por muchos factores (tabla II.1) y han sido objeto de numerosos estudios, tanto en situaciones normales como patológicas [HORIYE, 1924; SUNDBLAD, 1953; DECKER y cols., 1959; RODNAN y McLACHLAN, 1960; ROPES y cols., 1960; SMITH y cols., 1960; BLAIR y cols., 1961; SUNDBLAD y cols., 1961; NETTELBLADT y cols., 1963; SCHUR y SANDSON, 1963; HAMERMAN y BARLAND, 1966; BARLAND y cols., 1968; BALAZS, 1969; BROWN y cols., 1969; SCHUMACHER, 1969; SLIWINSKI y ZVAIFLER, 1969; KUSHNER y SOMERVILLE, 1971; CHAMBERLAIN y cols., 1972; PRUZANSKY y cols., 1973; SIMKIN y PIZZORO, 1974; MITNICK y cols., 1978; SIMKIN y NILSON, 1981; CECERE y cols., 1982; LEVICK, 1981, 1983; TAYLOR y GRANGER, 1984; RENKIN, 1985; CARROLL, 1987; RATCLIFFE y cols., 1988; De PEDRO y cols., 1989; SLEDGE, 1989; WEINBERGER y SIMKIN, 1989].

Tabla II.1.- Factores determinantes de la concentración de proteínas en el líquido sinovial [WEINBERG y SIMKIN, 1989].	
Permeabilidad microvascular	Uniones de las células endoteliales Vesículas endoteliales Fenestraciones endoteliales Membrana basal endotelial
Propiedades intersticiales	Difusión restringida Filtración en gel
Forma de transporte	Difusión Convección Transporte específico
Metabolismo sinovial	Síntesis Consumo
Vascularización sinovial	
Drenaje linfático	

La eliminación de sustancias del líquido sinovial se produce por distintos mecanismos. Por un lado, las células de revestimiento de la membrana sinovial fagocitan los residuos que se encuentran en la interfase líquido sinovial/superficie celular. El líquido sinovial es fagocitado por los sinoviocitos tipo A por medio de la pinocitosis. Las vacuolas resultantes, repletas de líquido, pueden o no contener residuos y parecen fusionarse para formar vacuolas mayores que se trasladan más profundamente en el citoplasma. A su vez, estas vacuolas son atacadas por los lisosomas primarios que vierten en ellas los enzimas hidrolíticos [LEACH y cols., 1988]. Por otro lado, el sistema linfático puede incrementar la eliminación de macromoléculas del fluido [RODNAN y McLACHLAN, 1960; BROWN y cols., 1969; SLIWINSKI y ZVAIFLER, 1969]. Sin embargo, hay evidencias indirectas que sugieren que este mecanismo de "limpieza" es inadecuado para absorber el trabajo que se presenta durante una inflamación articular severa. [ABE y NAGAI, 1973; RUDDY, 1974; HARRIS y cols., 1975].

En conclusión, bajo condiciones de normalidad, la concentración intrasinovial de cualquier sustancia reflejará un equilibrio entre los niveles transportados hacia y desde el líquido sinovial. [LEVICK, 1981; WALLIS y cols., 1985].

GREILING y cols., en 1986, establecieron el concepto de "sistema sinovial", integrado por *el cartilago articular, la membrana sinovial y la sinovia*, sobre la base de que ninguno de éstos puede considerarse funcionalmente independiente de los demás. En este sentido, el sistema sinovial es la diana de todas las incógnitas que probablemente esconden la clave sobre la salud y la enfermedad articulares. Sus interacciones y los mecanismos fisiopatológicos que las condicionan son el objetivo de la gran mayoría de las investigaciones actuales.

Las dos funciones clásicamente atribuidas a la membrana sinovial, producción de líquido sinovial (sinovia) hacia la cavidad articular y eliminación de líquido sinovial y detritus procedentes de la misma [GHADIALLY y ROY, 1969], podrían dar la impresión de una simplicidad ideal que no se corresponde en modo alguno con el actual concepto funcional de dicha membrana. La lubricación y la nutrición del cartilago, aunque muy importantes, son sólo una parte del cometido de la membrana sinovial si tenemos en cuenta que es en ella donde, probablemente, se inician y desarrollan los mecanismos, no del todo conocidos, de los que dependen la defensa y, por lo tanto, la salud articulares.

La membrana sinovial constituye una barrera entre la sangre y el líquido sinovial, aunque bien es cierto que la ausencia de lámina basal y la profusión de capilares fenestrados facilitan el paso a su través de componentes sanguíneos.

Muchas células de la íntima sinovial presentan organelas asociadas con actividades sintéticas y secretoras [HAMERMAN y BARLAND, 1966; LINCK y PORTE, 1981; GRAABACK, 1982; HAMERMAN y cols., 1982]. Las células sinoviales sintetizan ciertos constituyentes del fluido sinovial [YIELDING y cols., 1957; BLAU y cols., 1965; JANIS y cols., 1967; ROY y GHADIALLY, 1967; BARLAND y cols., 1968; BAXTER y cols., 1973]; y la demostración de macromoléculas sulfatadas en éste ha estimulado la investigación del metabolismo del azufre en los sinoviocitos [BARKER y cols., 1966; SEPPALA y cols., 1972; BJORENSEN y cols., 1986].

Los fibroblastos y los sinoviocitos tipo A de la membrana sinovial sintetizan el ácido hialurónico [ROY y GHADIALLY, 1967], el principal GAG de la sinovia (3

g/l), mientras que las otras células sinoviales de la íntima sintetizan parte de los elementos lubricantes de dicho líquido [SWANN, 1981].

El ácido hialurónico predomina en la composición de la matriz extracelular de la membrana sinovial y, quizás, sea esta circunstancia la que determine la función de ultrafiltrado que desarrolla la matriz. De este modo, la concentración de elementos de bajo peso molecular de la sinovia normal es similar a la sanguínea, mientras que los componentes de alto peso molecular se encuentran en concentraciones mucho menores que la plasmática. Por consiguiente, las alteraciones del ácido hialurónico, bien por defectos de síntesis, o bien por despolimerización posterior, conllevan una modificación de la viscosidad de la matriz que le hace fracasar en su papel. Esto ocurre en las enfermedades articulares inflamatorias como la artritis reumatoide [GREILING y cols., 1986].

El ácido hialurónico sufre la acción directa de radicales libres derivados de oxígeno (ODFR) [GREENWALD y MOY, 1980], que ocasionan la despolimerización de éste, resultando un anormal acortamiento de su molécula. En consecuencia, existe una disfunción matricial que se hace patente con un aumento de la concentración en sinovia de la α_2 -macroglobulina de hasta 10 veces la normal [GREILING y cols., 1986].

Las células sinoviales secretan fibronectina [HYNES, 1976] y probablemente laminina [FREEMAN y KEMPSON, 1974]. Estas glucoproteínas pueden participar en la unión de las células a la matriz extracelular subyacente [HYNES, 1973; YAMADA y WESTON, 1974; ALI y cols., 1977; CLEMMENSEN y cols., 1983]. Las células sinoviales en cultivo sintetizan colágeno (tipos I y III), colagenasa latente, metaloproteinasas [MURPHY y cols., 1981], otras proteinasas latentes, un activador de la colagenasa, interleukina-1 [FELL y JUBB, 1977; DINGLE y cols., 1979], inhibidores de las metaloproteinasas neutras [MURPHY y cols., 1981], proteoglucanos [MARSH y cols., 1982] y muchos otros constituyentes menores de la matriz extracelular todavía no identificados.

El sistema vascular de las extremidades actúa, también, como un sistema de distribución contracorriente para regular la temperatura de los tejidos. Aunque la temperatura en el núcleo corporal de la mayoría de los seres humanos varía poco de una media de 37°C, es probable que la temperatura dentro de las articulaciones refleje los valores de los tejidos blandos que las recubren. Por ejemplo, la articulación metacarpo-falángica, que apenas tiene aislamiento graso o muscular, muestra una temperatura muy

similar a la de la piel cercana y mantiene unos valores residuales entre 39 y 40°C cuando se introduce la mano en un guante eléctrico [MAINARDI y cols., 1979]. La regulación de la temperatura en la rodilla no es tan sencilla. Aunque la temperatura intraarticular es siempre inferior a 36°C cuando la temperatura ambiente ronda los 20°C, hay grandes variaciones entre ambas [HORVATH y HOLLANDER, 1949]. Además, tanto el frío como el calor aplicados en la rodilla desencadenan una serie de cambios reflejos en la temperatura articular en un sentido contrario [HOLLANDER y HORVATH, 1949]. De forma parecida, un estímulo doloroso disminuirá la temperatura de la piel mientras que aumentará la articular. Los movimientos activos de la articulación bajo condiciones de descarga aumentan la temperatura intraarticular hasta en 1°C, fenómeno que puede explicarse satisfactoriamente por el aumento del flujo vascular en el tejido subsinovial.

El interés de estos datos radica en que el nivel de actividad enzimática está en función directa de la temperatura. El metabolismo del tejido conectivo *in vitro* se estudia a una temperatura de 37°C, si bien, los tejidos de las articulaciones sólo alcanzan esta temperatura durante los estados inflamatorios. Reacciones bioquímicas que se desarrollan intensamente a 37°C podrían alterarse de tal forma con una temperatura de 32°C que el efecto neto de las mismas sería un cambio de sentido en la ruta metabólica o un enlentecimiento considerable en la velocidad de reacción. Por ejemplo, el nivel de destrucción de las fibras colágenas del cartilago articular por mediación de una colagenasa es significativo a 37°C pero a 32°C es prácticamente imperceptible [HARRIS y McCROSKERY, 1974]. Un aumento de la temperatura de 8°C (de 30 a 38) en una línea de células en cultivo provoca un gran aumento en los niveles de síntesis del ácido hialurónico, mientras que la utilización de glucosa y lactato apenas crece [CASTOR y YARON, 1976].

La cavidad articular es un espacio virtual y la pequeña cantidad de líquido sinovial presente se distribuye en las superficies, pero no llega a separarlas. De hecho, la presión dentro de la articulación puede ser negativa si se compara con la presión atmosférica [MUELLER, 1929].

La presión negativa debe ser grande entre las articulaciones de los dedos para llegar a producir el chasquido articular. Durante este proceso, la tracción rápida de una falange "relajada" provoca la creación de una burbuja gaseosa en la articulación, acompañada de un sonido de chasquido característico por la cavitación originada y que genera la liberación de energía en forma de calor o sonido [UNSWORTH y cols., 1971]. La presión negativa normal de la articulación juega un papel importante en el

mantenimiento del contacto de las superficies articulares. La presencia de un derrame sinovial cambiaría esta situación.

Los humanos percibimos el aumento de la presión intraarticular como una sensación molesta. En el caso de un derrame en la articulación de la rodilla adoptaríamos una posición de ligera flexión articular, posición de máxima capacidad en la que la presión alcanzaría un nivel mínimo [JAYSON y DIXON, 1970a]. La flexión o extensión completas de la articulación, en estas condiciones, provocarían un aumento de la presión intraarticular lo suficientemente importante como para producir una rotura capsular [JAYSON y DIXON, 1970b].

Las presiones intraarticulares altas pueden comprometer el flujo sanguíneo de la sinovial [JAYSON y DIXON, 1970c; MYERS y PALMER, 1972]. Las inflamaciones y las sinovitis proliferativas crónicas provocan un engrosamiento de la cápsula que, gradualmente, disminuye la capacidad articular [MYERS y PALMER, 1972]. La presión en estas articulaciones se mantendría en valores mínimos mientras no se sobrepasase un volumen crítico, a partir del cual se produciría un rápido aumento de la presión, que podría provocar una rotura capsular o bien la penetración de líquido a través del hueso debilitado para formar quistes subcondrales [JAYSON y cols., 1970; MAGYAR y cols., 1974].

II.2.- Cartílago articular

En las articulaciones móviles se generan altas presiones derivadas del propio peso corporal (gravedad) y/o de la fuerza desarrollada por la actividad muscular. Este ambiente físico ocasiona la evolución del tejido conjuntivo hacia una organización supramolecular característica a la que se conoce con el nombre de cartilago articular.

El cartilago articular recubre la superficie donde los elementos óseos se ponen en contacto al constituirse la articulación móvil. Clásicamente considerado como un cartilago permanente y, por su aspecto macroscópico, apellidado hialino, el cartilago articular forma una capa cuyo grosor, al igual que su estructura y la proporción de sus elementos constituyentes, varían de un individuo a otro, de una articulación a otra y aún dentro de una misma articulación. Está constituido por un componente celular, relativamente escaso, que se distribuye en una matriz predominante y cuya arquitectura corresponde a los mismos principios de todas las matrices extracelulares, esto es, una red colágena a la que se anclan o en la que permanecen atrapados otros componentes de la matriz, tales como los proteoglucanos. La gran hidratación de estos últimos y las

interacciones recíprocas que establecen con el componente colágeno son las responsables de las propiedades biomecánicas que hacen del cartilago articular un material viscoelástico óptimo para soportar las presiones articulares. Descansa sobre una plataforma ósea denominada hueso subcondral, de manera que parece existir una continuidad entre las matrices de ambos tejidos, y está desprovisto de pericondrio, ofreciendo una superficie articular desnuda y muy lisa que permanece bañada por el líquido sinovial.

La lisura de la superficie, aumentada por la lubricación que le ofrece el líquido sinovial, hace que el cartilago articular permita un deslizamiento máximo con una resistencia por rozamiento mínima.

La ausencia de vasos sanguíneos y linfáticos es una característica que en otro tiempo sugirió una cierta desconexión del resto del organismo y que, unido a la aparentemente baja actividad celular, condujo a considerarlo como un tejido inerte [MANKIN, 1974].

El cartilago articular es un tejido estructuralmente "diseñado" para el movimiento y que vive del movimiento, ya que la nutrición de sus células se realiza mediante la circulación de nutrientes a través de su matriz, que fundamentalmente proceden del líquido sinovial, aunque en los animales jóvenes también lo hacen desde el compartimento subcondral. Esta circulación de sustancias hacia y desde la células es posible gracias al mecanismo de extrusión-imbibición que provocan en la matriz las presiones generadas por el propio movimiento articular.

Está claro que las propiedades biomecánicas y las funciones biológicas del cartilago están determinadas por la composición y estructura molecular de la matriz producida por los relativamente escasos condrocitos.

Existe una íntima unión entre la membrana celular del condrocito y la matriz, de manera que al tiempo que ésta protege a las células de posibles lesiones derivadas de la presión, les transmite señales de tipo químico, eléctrico y mecánico que influyen en la función del condrocito [BUCKWALTER y ROSEMBERG, 1988].

II.2.1.- Constitución del cartílago articular

II.2.1.1.- Distribución de las células y la matriz extracelular

En esencia y muy simplificada, el cartílago articular está constituido por una **población celular** relativamente escasa (10% del volumen total) dispuesta de manera dispersa en la abundante **matriz extracelular**. Esta matriz extracelular está constituida por un 60-80% de agua que mantienen atrapada los complejos macromoleculares de proteoglicanos y que, a su vez, están retenidos en una rica red de colágeno que actúa como un esqueleto fibroso y que, en conjunto, se oponen a las fuerzas de estiramiento y compresión. La interacción agua-proteoglicanos proporciona a la matriz extracelular su característica viscoelasticidad, actuando como un amortiguador hidrodinámico.

La matriz extracelular del cartílago articular contiene también proteínas no colágenas (glucoproteínas), lípidos y sales inorgánicas.

Los constituyentes matricial y celular del cartílago articular se disponen de manera que, cuando se observan al microscopio óptico secciones perpendiculares a la superficie articular, se distinguen en él varias zonas o estratos denominados, habitualmente, de forma numérica y que poseen características distintivas. Así, en el cartílago articular adulto se describen cuatro zonas que, desde la superficie articular hacia el hueso subcondral, se denominan zonas I, II, III y IV. Las tres primeras corresponden a cartílago no mineralizado y están finamente separadas de la IV, cuya matriz está mineralizada, por una línea que los autores sajones denominan "*tidemark*".

La **zona I**, también denominada **zona superficial o tangencial**, es la de mayor densidad celular. Los condrocitos son relativamente pequeños y aplanados, con su diámetro mayor paralelo a la superficie articular. Esta disposición típica refleja la disposición de las fibras colágenas de la matriz, que siguen un trayecto fundamentalmente tangencial.

La **zona II**, conocida también como **zona de transición o intermedia**, posee células más grandes, de perfil redondeado y dispuestas de forma desordenada en una matriz cuyas fibras colágenas se cruzan oblicuamente en todas las direcciones.

En la **zona III o profunda** las células aumentan de tamaño y se ordenan en columnas perpendiculares a la superficie. Este agrupamiento columnar denuncia el

predominio de la disposición radial de las fibras de colágeno.

La zona IV se caracteriza por poseer una matriz fuertemente mineralizada. En ella las células, dispuestas en columnas, están individualmente rodeadas por una fina capa de matriz no mineralizada.

La distinción entre las zonas I, II y III sólo es posible en el cartilago adulto. En el cartilago de individuos en crecimiento, en los que no ha concluido el modelado de las epífisis y, por lo tanto, tampoco la conformación final del cartilago articular, no se distingue una subdivisión entre las zonas II y III. El tipo de distribución celular está muy determinado por la proliferación, de manera que se observan grupos de dos células o más sin una orientación preferente. Hacia la zona de calcificación las células se vuelven hipertróficas pero no forman columnas. De esta manera, la organización del cartilago articular en zonas se establece sólo cuando termina el crecimiento local [SCHENK y cols., 1986].

Si observamos el cartilago articular al microscopio electrónico podemos distinguir diferentes compartimentos en la matriz según la relación o disposición que ésta guarda con respecto a las células. Así, se denomina **matriz pericelular (MPc)** a una fina capa de matriz que rodea, sobre todo, a los condrocitos del cartilago joven. Este compartimento matricial es rico en proteoglucanos, hecho que determina su característica afinidad tintorial al MO y que al MET se visualiza como típicos granos oscuros interconectados por finos filamentos.

El compartimento conocido como **matriz territorial (MT)** está situado a continuación del anterior, envolviendo individualmente a cada condrocito en el cartilago adulto o a pares o grupos de condrocitos en el cartilago inmaduro. En la zona III la MT forma también los septos intercelulares. En todos los casos es difícil establecer el límite entre la MPc y la MT. En la MT abundan las fibrillas de colágeno, relativamente finas, que se cruzan formando distintos ángulos y forman una especie de cestilla fibrilar. Estas fibrillas alcanzan el siguiente compartimento, matriz interterritorial, de manera que permanecen estrechamente interconectados, resultando difícil la separación mecánica de ambos. El límite entre MT y matriz interterritorial se detecta con el MET por el cambio, más bien brusco, en el diámetro de las fibrillas de colágeno predominantes y la transición desde una orientación al azar hacia una alineación paralela y ordenada.

La **matriz interterritorial (MIT)** supone la mayor parte de la sustancia intercelular en el cartilago articular, de modo que determina en gran manera los análisis de composición química, reactividad bioquímica y de comportamiento y funcionamiento mecánico.

La distribución de las fibras de colágeno en este compartimento matricial varía según las zonas del cartilago articular. En la zona I del cartilago adulto se disponen predominantemente con una trayectoria tangencial, en la zona II se cruzan en todas las direcciones ("*arcadas de BENNINGHOFF*") y en las zonas III y IV siguen una disposición radial.

La utilización de métodos histoquímicos y de inmunofluorescencia en la identificación de los GAG y el estudio de la distribución de PG, permitió una subdivisión adicional de las zonas media y profunda en tres compartimentos matriciales concéntricos: compartimento pericelular rico en condroitín sulfato y ácido hialurónico; compartimento territorial en el que abunda el condroitín sulfato, y un compartimento interterritorial con un alto contenido de queratán sulfato.

En el cartilago inmaduro, como hemos comentado ya, la disposición radial de las capas III y IV no es aparente todavía, de manera que sólo tiene en común con el cartilago adulto la disposición de las zonas o capas I y II. Sin embargo, sí existe un incremento evidente en el diámetro de las fibras en sentido descendente que oscila entre los 50 a 80 nm de la zona II y los 100 a 150 nm de las zonas profundas.

La mineralización de la matriz del cartilago articular se produce sólo en la zona IV y queda restringida a la MIT, de manera que los condrocitos situados en la zona calcificada permanecen constantemente rodeados por matriz territorial no mineralizada, detectable incluso con el MO. En los lugares de mineralización inicial de la MIT se pueden observar vesículas matriciales típicas de dicho proceso.

En las preparaciones histológicas se observa una línea basofílica entre la zona calcificada y la zona no calcificada del cartilago articular. Esta línea, denominada "*tidemark*" [FAWNS y LANDELLS, 1953], representa el frente de avance de la mineralización de la matriz del cartilago articular. Al MET se corresponde con acumulaciones de mineral que protruyen 1 o 2 μm en los espacios interfibrilares de la zona III. Tras la decalcificación, el *tidemark* tiene apetencias tintoriales que indican la presencia de glucoproteínas y lípidos, y comparte las propiedades tintoriales con las líneas de cemento del hueso. Como quiera que el mineral está expuesto temporalmente

a los fluidos intersticiales, los cristales de apatita podrían adsorber cualquier material disponible en dichos fluidos. Si tenemos en cuenta que el flujo nutricional del cartilago se dirige desde la superficie hacia el cartilago calcificado, se podría pensar que el *tidemark* actúa como una especie de filtro donde se acumulan, y tal vez se adsorban, distintos restos celulares y productos de desecho procedentes de la destrucción matricial [SCHENK y cols., 1986].

II.2.1.1.1.- Superficie articular

HUNTER [1743] describió la superficie del cartilago articular como "*lisa, pulida y cubierta por una membrana*". En 1951 McCONAILL, utilizando el microscopio de contraste de fases, describe una fina línea brillante que se corresponde con la sección de una lámina que recubre todo el cartilago articular, carente de colágeno y, por lo tanto, de naturaleza puramente hialina, que denomina "*lámina splendens*". Más tarde esta lámina es considerada por ASPDEN y HUKINS [1979] como un artefacto de la microscopía de contraste de fases. Hoy sabemos que el cartilago articular carece de pericondrio y que no está cubierto por la membrana sinovial. Sin embargo, se ha descrito mediante MEB una fina capa de fibrillas entrelazadas de colágeno, dispuesta paralelamente a la superficie, que puede desprenderse poco a poco con la pinza como si se tratase de una membrana, "*peeled layer*" [CLARKE, 1971c,d].

Mediante el MET se observa un material amorfo electrondenso que recubre la superficie articular [BALAZS y cols., 1966], denominada "*lámina obscurans*" por GARDNER [1978]. No se conoce la composición exacta de este recubrimiento, pero se ha sugerido que puede tratarse de una mezcla de material ajeno al cartilago (fluido sinovial precipitado) y/o material procedente del cartilago (restos lipídicos de la matriz y metabolitos degradados vertidos hacia la cavidad articular) [GHADIALLY, 1978, 1981]. BALAZS y cols. [1966] apuntaban que la "*lámina obscurans*" pudiera contener hialuronato, pero los trabajos de distintos autores, entre ellos MEACHIN y STOCKWELL [1979], pusieron en duda tal posibilidad.

Las observaciones de GHADIALLY y cols. [1982] refuerzan la teoría de que se trata de material procedente del cartilago articular, puesto que en su trabajo describen restos lipídicos matriciales bajo el aspecto de gránulos electrondensos, membranas mielínicas o vesículas matriciales que son descargadas sobre la superficie y se mezclan con la capa que la recubre.

GARDNER y cols. [1981], que estudiaron mediante MET réplicas de superficie de cartilago articular hidratado, no fijado y rápidamente congelado, observaron zonas de la superficie ricas en fibras que alternan con zonas ocupadas o cubiertas de un material amorfo que puede corresponder a la "lámina obscurans". Estos autores interpretan que la lámina puede ser alterada fácilmente durante el procesado, de manera que queda al descubierto la estructura fibrilar de la superficie del cartilago. Asimismo, describen unas estructuras hemisféricas, de 400-1.700 nm de diámetro, distribuidas por toda la superficie (con o sin lámina) que, por su morfología, tamaño y localización, identifican como lípidos.

Existe una gran controversia, ya tradicional, sobre la lisura o rugosidad de la superficie del cartilago articular. En un principio la mayoría de los observadores del cartilago, mediante MO y MET, reivindicaban la extrema lisura de la superficie articular. Utilizando la gran magnificación del MET, las irregularidades observadas en animales adultos jóvenes eran de menos de 0,025 μm de profundidad [DAVIES y cols., 1962], de menos de 0,3 μm en conejos viejos (más de 9 meses) [BARNETT y cols., 1963] y de menos de 0,3 μm de profundidad en el cartilago humano [WEISS y cols., 1968]. De todos modos, en ambas especies se pudieron encontrar irregularidades ocasionales más profundas.

Tal y como demuestran GHADIALLY y cols. [1982], las ondulaciones de la superficie articular (arrugas y surcos) no se corresponden con el aspecto de la superficie articular *in vivo*, sino que son artefactos producidos por la distorsión y retracción que sufre el cartilago articular cuando es separado del hueso subcondral antes del procesado. Las irregularidades ocasionales de más de 1,5 μm de profundidad se describen generalmente en individuos viejos, por lo que podría tratarse de artefactos y/o irregularidades de una superficie fibrilada o envejecida propia de tales edades.

Con la aparición del MEB crece el número de autores que afirman la irregularidad de la superficie articular. En algunos casos se llega a adjudicar a las arrugas y surcos un papel importante en el mecanismo de lubricación articular [WALKER y cols., 1969; MOW y cols., 1974]. Sin embargo, se ha demostrado que las arrugas y surcos no aparecen en el cartilago articular normal humano, de conejo, de perro, gato o rata, cuando es procesado con el hueso subcondral intacto [CLARKE, 1971a,b,c, 1973; GHADIALLY y cols., 1976b, 1977a,b, 1978, 1981; BLOEBAUM y WILSON, 1980] pero tales ondulaciones sí se producen cerca de la línea de fractura en el cartilago articular procesado unido al hueso subcondral, adyacentes a cortes o agujeros realizados en la superficie del cartilago o en toda la superficie del cartilago cuando éste

se ha separado del hueso subcondral. En los dos últimos casos no sólo se describen grandes ondulaciones de varias μm , sino que también aparecen finos pliegues de $0,5 \mu\text{m}$ que son paralelos o perpendiculares a los primeros [GHADIALLY y cols., 1976b, 1977a]; ambos son artefactos derivados del fruncido por retracción.

LONGMORE y GARDNER [1975, 1978] afirman que el fruncido fino (arrugas cuaternarias) es una característica de la superficie articular normal y que aumenta con la edad. Esto es discutido por BLOEBAUM y WILSON [1980], para quienes dichas irregularidades son análogas a las observadas en superficies articulares expuestas a condiciones ambientales atmosféricas, secundarias a la retracción por el secado al aire.

El origen artefactual de estas ondulaciones se confirma porque no aparecen cuando se emplea el secado por punto crítico en cóndilos femorales intactos [GHADIALLY y cols., 1977b, 1978].

GARDNER [1972] intentó probar que las ondulaciones aparecen en la superficie del "cartilago fresco" examinando al MEB cartilago *"sin fijar, sin secar y sin sombrear"*, a lo que GHADIALLY [1982] contesta que *"un espécimen expuesto a condiciones de alto vacío en un MEB, y calentado por el haz de electrones difícilmente puede ser considerado como no secado"*.

También mediante MEB, se han descrito numerosos hoyos ("*pits*") en la superficie del cartilago adulto procesado unido al hueso subcondral, en especies distintas incluyendo al hombre [CLARKE, 1973; GHADIALLY y cols., 1976b, 1977b, 1978]. Este aspecto se presenta tanto en las piezas secadas al aire como en las piezas secadas por punto crítico, si bien, en éstas últimas los hoyos aparecen menos marcados. CLARKE [1973] los atribuyó a la retracción de condrocitos subyacentes, pero GHADIALLY [1978, 1981] considera insuficiente tal explicación para justificar la existencia de los "*pits*" en el cartilago *in vivo* y propone, como explicación de los hallazgos, otra hipótesis: *"Los tejidos procesados para MEB son sometidos a la que puede ser denominada "deshidratación sin sustitución". Ésta es distinta a la deshidratación empleada para MO y MET, en las que en cada momento el agua tisular es sustituida por algún otro material. No sorprende, por lo tanto, que los "pits" no aparezcan en las preparaciones de MO y MET y sí aparezcan en las de MEB, en las que se "derrumba" la superficie suprayacente a los condrocitos superficiales retraídos"*.

Se han descrito en la superficie articular del cartilago joven, procesado unido al hueso, unas elevaciones ("*humps*") que existen en especies distintas, incluido también el hombre [GHADIALLY y cols., 1977b, 1978]. Tales "*humps*" están ausentes de la superficie de los cartilagos adultos, de igual manera que lo están los "*pits*" en la superficie de los cartilagos inmaduros. La presencia, frecuencia y predominio de "*pits*" y "*humps*" varían con la edad, de manera que se describen en edades tempranas un predominio de las elevaciones, luego una coexistencia de elevaciones y hoyos y, finalmente, un predominio de los "*pits*" en el cartilago adulto.

GHADIALLY [1982] considera probable que las elevaciones se correspondan con condrocitos situados muy superficialmente, que protruyen y se hacen evidentes como consecuencia de la retracción que el tejido sufre durante el procesado. En consecuencia, opina que el predominio de los "*pits*" en el cartilago adulto y de las elevaciones en el cartilago juvenil, probablemente se deba a que la zona I del cartilago joven es mucho más celular que en el adulto, aparte de las posibles diferencias existentes en las características fisico-químicas de las respectivas matrices.

Los estudios mediante MEB del cartilago articular hidratado y sin fijar, a baja temperatura, realizados por GARDNER y cols. [1981] revelan unas características similares a las observadas con las técnicas convencionales de MEB en cartilago articular fijado y deshidratado, exceptuando la manifiesta ausencia de "*pits*" en las piezas congeladas.

De todos modos, GHADIALLY [1982] no considera estos resultados como una razón definitiva para admitir que tales características se den en la superficie articular *in vivo*, pues la microheterogeneidad del cartilago articular, esto es, las variaciones zonales del contenido de agua, proteoglucanos, colágeno, etc. [STOCKWELL, 1979], hace presuponer que determine comportamientos muy dispares ante la congelación, generando estreses que podrían conducir a una alteración material de la topografía de la superficie articular.

BLOEBAUM y WILSON [1980] procesan, para MEB, el cartilago articular normal unido al hueso, sometiéndolo a fijación en glutaraldehído, postfijación por inmersión en tetróxido de osmio y secado por punto crítico. Consiguen una superficie articular completamente lisa, concluyendo que los "*pits*" y los "*humps*" no son visibles en MO y MET, simplemente, porque no existen, ya que son atribuibles a técnicas de procesado inadecuadas.

II.2.1.1.2.- Línea de mineralización ("tidemark")

El cartilago articular exhibe una gradación en la composición de la matriz, organización del colágeno, y la forma y agregación de los condrocitos desde la superficie articular hacia el cartilago calcificado subyacente.

La integridad estructural entre el cartilago articular más adaptable y el rígido cartilago calcificado subyacente se lleva a cabo por continuidad de las fibras colágenas a través de la interfase entre estas dos capas [REDLER y cols., 1975], conocida como "tidemark" [FAWNS y LANDELLS, 1953].

Es esencial que el cartilago articular, altamente adaptable, disponga de un anclaje seguro en su rígida base calcificada que le permita soportar los distintos grados de carga mecánica a que está sometido durante el funcionamiento normal de la articulación, ya que los cambios repentinos en la adaptabilidad podrían estar asociados con cambios bruscos del nivel de estrés experimentado en el *tidemark* [BROOM y POOLE, 1982].

Hoy se acepta, de forma general, que el *tidemark* y el cartilago calcificado juegan un papel crucial en la transmisión de las fuerzas mecánicas desde el cartilago articular al hueso subcondral [ASKEW y MOW, 1978].

La morfología parece sugerir que la transmisión suave de la tensión entre el tejido adaptable y el rígido puede conseguirse a través de los cambios en la orientación y la densidad de empaquetamiento de las fibras de colágeno en el cartilago adyacente al *tidemark* [BROOM y POOLE, 1982].

Según GONGADZE [1987], esta región, que sufre cambios importantes con el crecimiento, el envejecimiento y la patología osteoarticular, puede considerarse como una barrera o un filtro selectivo que regula la permeabilidad. Su alteración, además de suponer un deterioro estructural, modificaría la permeabilidad, permitiendo el acceso de vasos subcondrales y otros elementos desde la médula ósea.

El *tidemark* está presente también en los cojinetes fibrocartilagosos que existen en la inserción tendinosa de ciertos músculos. Esto ha sido estudiado por BENJAMIN y cols. [1986], quienes opinan que la matriz del cartilago mantiene juntas (agavilladas) las fibras de colágeno de manera que asegura que éstas alcancen siempre el *tidemark* en ángulos próximos al ángulo recto. De este modo el fibrocartilago no

calcificado asegura que las fibras del tendón no se doblen, biselen o terminen siendo comprimidas en una interfase tisular dura, ofreciéndoles de este modo cierta protección ante el desgaste.

Igualmente existe una interfase entre el cartilago no calcificado y el cartilago calcificado en las articulaciones intersomáticas vertebrales, de manera que también aquí se puede observar la línea del frente de mineralización o *tidemark*. [BOYDE y JONES, 1983].

II.2.1.1.3.- Unión osteocondral

Hay que considerar una última interfase en el cartilago articular, la **unión osteocondral**, lugar donde el cartilago se adhiere al hueso [HOUGH y cols., 1974] y donde tiene lugar el crecimiento y remodelado del hueso subcondral mediante osificación encondral, en la que la invasión vascular desde el hueso subcondral precede a la osificación del cartilago calcificado [GREEN y cols., 1970].

El cartilago calcificado no tiene un crecimiento intersticial, sino que las variaciones de su espesor dependen de la osificación encondral y del avance del frente de calcificación del cartilago. Este último supone la incorporación del cartilago articular no calcificado en la zona de cartilago calcificado y tiene su expresión histológica en la duplicación del *tidemark* [LANE y BULLOUGH, 1980].

La línea de interfase osteocondral es análoga a la línea de cementación. Los condroclastos horadan el cartilago calcificado de manera que queda expuesta una superficie calcificada, sobre la que los osteoblastos depositan hueso. En consecuencia, las fibras de colágeno no parecen atravesar esta frontera. Aparentemente, la firmeza de la unión osteocondral se basa únicamente en la adherencia, de forma similar a las líneas de cementación del hueso, pero dicha firmeza se ve incrementada por la interdigitación a diferentes niveles estructurales [SCHENK y cols., 1986].

En los cortes histológicos perpendiculares a la superficie articular, la unión osteocondral se evidencia como una línea ondulante de situación más profunda que el *tidemark*, que denota el cambio brusco entre las características de la matriz del cartilago calcificado y la matriz ósea subcondral, de modo que al microscopio óptico esta última resulta fuertemente eosinofílica [GILMORE y PALFREY, 1987].

En 1895, ROUX proponía que la diferenciación de los tejidos conjuntivos estaba controlada, en parte, por fuerzas mecánicas. CARTER y cols. [1987] profundizan en este postulado y proponen que la osificación endcondral se podría promover mediante la aplicación intermitente de fuerzas de cizallamiento y que la compresión hidrostática intermitente inhibe la degeneración del cartilago y la osificación.

El mayor o menor avance de la osificación depende, por lo tanto, de las condiciones mecánicas existentes. Es conocido que el espesor del cartilago articular es mayor en los lugares de la articulación que soportan una mayor carga [EGGLI y cols., 1988]. Esta característica la cumple en particular la zona de cartilago calcificado [MÜLLER-GERBL y cols., 1987]. Así, aquellas situaciones que conllevan el adelgazamiento del cartilago articular (falta de estímulo mecánico, etc.) o su deterioro, van acompañadas de un aumento de la formación de hueso subcondral [MÜLLER-GERBL y cols., 1987; BENSKE y cols., 1988], que es tanto mayor cuanto más reciente es la lesión y que puede llegar a superar tres o cuatro veces el patrón de crecimiento normal [BENSKE y cols., 1989].

II.2.1.2.- Componentes de la matriz

La función del cartilago articular es la transmisión y distribución de la carga al hueso subyacente, absorbiendo los impactos y manteniendo las fuerzas de contacto en un nivel aceptablemente bajo, al tiempo que el movimiento se realiza con el mínimo de fricción.

Dichas propiedades mecánicas son posibles en virtud de las características morfológicas y fisico-químicas de la matriz del cartilago articular, que son la expresión de complejos mecanismos de equilibrio entre los distintos componentes matriciales, incluso en condiciones de reposo. Dentro de estos mecanismos se incluye el entramado del colágeno y los proteoglucanos. En este sistema las fibras de colágeno aportan su resistencia a la tensión, los PG, mediante su presión de tumefacción (turgencia), la resistencia a la compresión y el flujo de líquidos a través de la matriz genera una resistencia difusa que se suma a la ofrecida por los PG.

II.2.1.2.1.- Los colágenos

Los colágenos son proteínas estructurales que están presentes en la matriz extracelular de todos los animales pluricelulares y constituyen el 25% de la proteína

total de los mamíferos siendo, por lo tanto, su proteína más abundante.

La gran mayoría de los colágenos forman fibras cuyo diámetro y orientación varían de un tejido a otro. Observadas al MET, estas fibras presentan una estriación periódica que induce a pensar que están formadas por subunidades moleculares sencillas [GARRONE, 1986].

La molécula de colágeno está constituida por tres territorios: un territorio en triple hélice en cuyos extremos se unen los territorios amino-terminal y carboxilo-terminal. Un colágeno puede ser definido más sencillamente como una proteína estructural cuyas propiedades funcionales dependen significativamente de su territorio helicoidal, constituido por tres cadenas polipeptídicas (cadenas alfa) que poseen una secuencia de aminoácidos muy regular, entre los cuales la prolina y la glicina son los más frecuentes. Además, todos los colágenos contienen segmentos globulares de mayor o menor tamaño.

Los diferentes colágenos se conocen como "tipos de colágenos" y se denominan con números romanos: I-XIII. Los números romanos de los distintos tipos de colágenos se han puesto en el mismo orden en que se han ido descubriendo. Para cada tipo de colágeno las cadenas alfa (α) se identifican con números árabes seguidos por el número romano correspondiente escrito entre paréntesis, p. ej.: $\alpha 1(I)$, $\alpha 1(II)$, etc.

Hasta este momento se han identificado 13 tipos de colágenos, caracterizados suficientemente para ser catalogados como tales y de los cuales solamente se han identificado cinco en el cartilago articular bovino adulto [EYRE y cols., 1987b]. Para codificar la constitución de las cadenas de estos 13 colágenos son necesarios un mínimo de 25 genes dispersos en el genoma humano. [MYERS y EMANUEL, 1987; BURGESSON, 1988; HENRY y cols., 1988; TSIPOURAS y cols., 1988; WEIL y cols., 1988; KIMURA y cols., 1989a,b; SHOWS y cols., 1989; HOSTIKKA y cols., 1990].

En torno a estos tipos de colágenos claramente distintos se forman hipótesis demostrables sobre su contribución individual en la determinación y estabilización de la arquitectura tisular.

Según sus estructuras supramoleculares, los colágenos se dividen en dos clases principales: **colágenos formadores de fibras o fibrilares** (tipos I, II, III, V y XI) y **colágenos no formadores de fibras** (tipos IV, VI, VII, VIII, IX, X, XII y XIII). El primer grupo contiene moléculas en triple hélice largas y continuas que constituirán las

fibras colágenas estriadas. Gracias a la formación de fibras y fibrillas de elevada organización, estos colágenos proporcionan un soporte estructural al organismo en diferentes lugares: esqueleto, piel, vasos sanguíneos, nervios, intestinos, cápsulas fibrosas de órganos... [VUORIO y de CROMBRUGGHE, 1990].

Los colágenos no formadores de fibras son más heterogéneos, tanto desde el punto de vista estructural como funcional. Pueden constituir los componentes de diferentes redes de la matriz extracelular (tipos IV, VI, VII, VIII, y posiblemente X) o interactuar directamente con colágenos formadores de fibras (tipo IX y probablemente tipo XII). Estos últimos, colágenos tipos IX y XII, forman un subgrupo que se ha denominado "FACIT" (*Fibril Associated Collagens with Interrupted Triple helices*). Se ha comprobado que el tipo IX se asocia al colágeno tipo II, mientras que el tipo XII, que comparte muchos aspectos estructurales con el colágeno tipo IX, parece estar asociado con el colágeno tipo I.

Mediante la utilización de técnicas inmunológicas específicas y la inmunolocalización ultraestructural se ha demostrado que las fibras colágenas estriadas contienen, en la mayoría de los casos, más de un tipo de colágeno; sin embargo, otras redes definidas ultraestructuralmente, como es el caso de las láminas basales, contienen un único tipo de colágeno [KEENE y cols., 1987; BIRK y cols., 1988].

Como ya hemos comentado, las propiedades funcionales de los colágenos dependen, sobre todo, de la porción en triple hélice de su molécula.

El proceso de síntesis colagénica comienza en los ribosomas unidos a membrana con la formación de las procadenas alfa, que pasarán hacia el interior del retículo endoplásmico al tiempo que se completa su crecimiento. En este lugar sufren la hidroxilación y posteriormente la glucosilación. Todos estos acontecimientos son previos al ensamblaje de las procadenas alfa para constituir una nueva estructura en triple hélice denominada **procolágena**. Una vez formada, la procolágena es empaquetada para su secreción por exocitosis. Después del proceso de secreción, la actuación de las procolágenopeptidasas sobre los péptidos de extensión de las cadenas alfa permitirá la formación de la molécula de **tropocolágena**, hasta entonces imposible por la existencia de dichos péptidos. Es ahora, en el espacio extracelular próximo a la superficie celular, cuando las moléculas de tropocolágena se ensamblan de modo que constituyen las **microfibrillas de colágena** [PROCKOP y cols., 1979; TRESLTAD y HAYASHI, 1979; ROBERT y LABAT-ROBERT, 1986].

La formación de fibrillas *in vitro* es el resultado de un proceso de autoensamblado que finaliza con la formación de fibras de diferentes longitudes y diámetros

que, cuando son teñidas negativamente, presentan al MET una estriación periódica. Este ensamblaje espontáneo está relacionado con la existencia, en una misma molécula, de aminoácidos con carga y aminoácidos hidrófobos que constituyen grupos funcionales denominados zonas polares y zonas hidrófobas respectivamente. Los grupos funcionales se disponen a lo largo de la molécula con una periodicidad de 67 nm, de manera que se distribuyen en cuatro regiones homólogas de longitud D, quedando en un extremo de dicha molécula una región de longitud D/3 formada por aminoácidos menos reactivos.

Las interacciones electrostáticas e hidrófobas entre moléculas, las obliga a disponerse en un mismo sentido y en paralelo, pero con un escalonamiento de longitud $D = 67$ nm [KUHNS, 1984]. Las moléculas linealmente dispuestas, se orientan de manera que el extremo amino-terminal de una se enfrenta al extremo carboxilo-terminal de la molécula vecina, permaneciendo separadas por espacios de longitud $2/3 D$ [KOBAYASHI y cols., 1985; WARD y cols., 1986], al mismo tiempo que se disponen con un cabalgamiento máximo de longitud $1/3 D$ con respecto a las moléculas subyacentes.

Como resultado de esta disposición, en cada período D de una fibrilla se distinguen dos zonas: una rica en espacios, donde son retenidos los metales pesados (positiva), y otra que se corresponde con las zonas de cabalgamiento máximo y que resulta impenetrable para los métodos de tinción (negativa).

La distribución de la estriación fibrilar *in vivo* es idéntica en todos los tejidos conjuntivos, independientemente del tipo de colágeno que compone las fibras; ello implica que todos los colágenos formadores de fibrillas estriadas deben tener unas características críticas en común.

Para que un colágeno forme fibrillas estriadas, de acuerdo con el modelo aceptado de cabalgamiento máximo intermolecular, debe poseer un territorio helicoidal de aproximadamente 295 nm de longitud y conservar la distribución lineal crítica de sus cargas o grupos funcionales [MAYNE, 1988].

De los estudios sobre la fibrilógenesis *in vitro* se puede concluir que la formación de fibras colágenas es un fenómeno muy complejo en el que median e influyen factores muy diversos. Entre ellos debemos considerar las interacciones específicas entre los territorios helicoidales, tanto de moléculas pertenecientes a un mismo tipo de colágeno, como entre moléculas de dos o más tipos de colágenos distintos [WARD y cols., 1986].

Los territorios globulares que se sitúan en los extremos del segmento helicoidal de las moléculas colagénicas interfieren en la agregación lateral de dichos segmentos helicoidales [BERG y cols., 1986], de tal manera que los territorios amino-terminales y carboxilo-terminales afectan de modo diferente a la formación de fibrillas, a su crecimiento en diámetro y al ensamblamiento fibrilar [MIYAHARA y cols., 1984; MOULD y HULMES, 1987]. Es fácil deducir de esto que la fibrilógenesis es subsecuente a un proceso proteolítico también complejo, ya

que las procolágeno-peptidasas son específicas para cada uno de los territorios globulares así como para cada tipo de colágeno. La concentración tisular de estas enzimas estará, a su vez, determinada por la cantidad y proporción en que éstos son sintetizados y secretados, por su vida media biológica y, finalmente, por la posible acción posterior de activadores o inhibidores exógenos [ADDAR y cols., 1986].

Una vez iniciada la fibrilogénesis, la duración y extensión de la formación de fibras varía con el tipo de colágeno [BIRK y SILVER, 1984; LAPIERE y cols., 1977], mientras que el crecimiento en diámetro de fibras reconstituidas es inversamente proporcional a la extensión de la glucosilación [VALLI y cols., 1986].

Si el proceso fibrilogénico *in vitro* parece complejo, es obvio que los acontecimientos *in vivo* se van a complicar mucho más. El simple hecho de que las fibras tisulares se compongan de más de un tipo de colágeno implica la existencia de interacciones entre diferentes moléculas, que a su vez están sujetas a modificaciones proteolíticas por la acción de multitud de enzimas distintos. A todo esto hay que añadir la intervención de factores exógenos y específicos del tejido, tales como la presencia de polianiones [SMITH y cols., 1987; VOGEL y TROTTER, 1987] o de otras proteínas matriciales con afinidades por la hélice del colágeno [CHANDRASEKHAR y cols., 1986; SPERANZA y cols., 1987].

Es evidente que la fibrilogénesis *in vivo* es un proceso altamente controlado y gran parte de esta regulación debe ser realizada por la célula mediante la secreción de los colágenos idóneos, en cantidades adecuadas y en el lugar y momento apropiados. Sin embargo, actualmente, se desconoce cuántos y cuáles de estos factores se regulan coordinadamente. Contrariamente, tras los estudios de la fibrilogénesis en tendón y córnea [BIRK y TRELSTAD, 1984, 1986], se puede pensar que existe una participación directa de la célula en la regulación de los mecanismos extracelulares de la fibrilogénesis. Se ha demostrado que los fibroblastos del tendón intervienen en la deposición y ensamblamiento de las fibrillas en los lugares de formación de la matriz, de manera que se definen tres compartimentos extracelulares que se corresponden con cada uno de estos tres niveles de organización. Dichos compartimentos se localizan en estrechas involuciones de la membrana citoplasmática contigua al espacio extracelular, de modo que las fibrillas se sitúan en estrechos canales constituyendo el compartimento más profundo; los haces de fibras se forman en el compartimento medio y éstos se reúnen para formar macroagregados en el compartimento más periférico y de mayor tamaño. De este modo, la célula concentra las subunidades fibrilares y regula la concentración de enzimas consiguiendo un control global sobre la fibrilogénesis. En última instancia, la célula determina la orientación final de las fibras mediante la modificación de la forma de los compartimentos y la separación o fusión de éstos [YANG y BIRK, 1988]. Se considera la posibilidad de que la célula, mediante variaciones en la proporción de los colágenos secretados, pueda controlar parámetros de la formación

fibrilar tales como el número de focos de iniciación de la fibrilogénesis la relación crecimiento en longitud/crecimiento en diámetro, el diámetro fibrilar definitivo y quizás la orientación uniforme de las fibras. Esta suposición viene a confirmarse por el hecho de que la relación o proporción de los colágenos tipos I, III y V son específicos de los diferentes estadios del desarrollo de un tejido [MAYNE, 1988].

Las fibras de colágeno constituyen el componente fibroso de la matriz del cartilago articular y suponen el 50% del peso en seco del cartilago articular [ANDERSON y cols., 1964].

La red de fibras de colágeno actúa como una estructura rígida en cuyo interior quedan atrapados los proteoglucanos. A su vez, las fibras de colágeno, prácticamente inextensibles (pueden estirarse un 5% de su longitud antes de la ruptura) [MILLER, 1978], se mantienen pretensadas por la acción de la turgencia hídrica de la sustancia fundamental (gel de proteoglucanos) [MAROUDAS, 1976a], de manera que proporciona una respuesta elástica instantánea a las fuerzas de compresión [SOUDRY y cols., 1986].

En base a la interdependencia existente entre la función y la forma, se presume que la organización y disposición de las fibras de colágeno guarden relación con el patrón de fuerzas que actúan sobre el cartilago articular [BULLOUGH y GOODFELLOW, 1968]. De ahí que la distribución espacial de las fibras de colágeno del cartilago articular haya sido objeto de numerosos estudios, al tiempo que ha suscitado controversias.

BENNINGHOFF [1925], tras sus estudios con microscopía óptica, propone que las fibras colágenas del cartilago articular se disponen, por lo general, siguiendo un sistema de arcadas.

Son numerosos los autores que han tratado de comprobar la existencia de tal disposición fibrilar utilizando muy diversas técnicas que incluyen el MET, el MEB, etc. En los inicios de la utilización del MET se demostró que, en el cartilago articular de distintas especies, las fibras de colágeno constituían una densa red [RUTH, 1946] en la que se observaban fibras gruesas y haces de fibras con una periodicidad de 60 nm típica del colágeno, mezcladas con otras fibras más finas (30 a 50 nm de diámetro) con periodicidades que oscilaban entre 18 a 20 nm [RANDALL y cols., 1952]. Se pudo observar una relación entre el grosor de las fibras y la edad del individuo [MARTIN, 1954].

Las fibras de la zona superficial del cartilago articular muestran una orientación predominantemente paralela a la superficie articular [CAMERON y ROBINSON, 1958]. Por debajo de esta zona las fibras de la red se disponen al azar, llegando a adoptar una orientación radial en las zonas más profundas según aumenta la edad y, sobre todo, en el cartilago degenerado [LITTLE y cols., 1958].

El concepto de una zona superficial de fibras paralelas a la superficie articular, una zona intermedia de fibras orientadas al azar y una última zona más profunda de fibras o haces de fibras orientadas de forma radial, fue secundado por la mayoría de los autores en la década de los 60.

En 1968, BULLOUGH y GOODFELLOW deducen de sus estudios con luz polarizada que, además de las fibras con la orientación predominante antedicha, existe un sistema de fibras de refuerzo que se disponen generalmente con un ángulo de 45° con respecto a las anteriores.

De forma muy resumida podríamos decir que con la utilización del MET en el estudio del colágeno, además de establecerse una aparente ordenación espacial de las fibras de la matriz, se ha observado la variación del calibre y periodicidad de las fibras colágenas en relación con la edad [SILBERBERG y cols., 1961], el incremento del diámetro fibrilar en relación con la profundidad [MUIR y cols., 1970], la compartimentación de la matriz basándose en la densidad y organización de las fibras de colágeno [POOLE y cols., 1984], la existencia de interacciones y asociación de las fibras colágenas [BROOM y MARRA, 1986] en la arquitectura de la matriz del cartilago articular en general, que conduce a la propuesta de modelos estructurales tridimensionales con posibles implicaciones biomecánicas [BROOM, 1986a] en las que más tarde abundaremos.

La aparición del MEB originó muchas esperanzas para los estudiosos de la estructura fibrilar del cartilago articular, puesto que suponía la posibilidad de visualización tridimensional de las fibras. Sin embargo, esta técnica presenta diversas limitaciones.

La deshidratación total de las muestras provoca una retracción con amplias repercusiones que pueden llegar a incluir una cierta alteración de la arquitectura interna del cartilago. La visualización de dicha arquitectura interna mediante MEB requiere, inevitablemente, técnicas de fractura de la pieza que pueden, asimismo, repercutir sobre la orientación de las fibras.

Las fibrillas de colágeno visualizadas mediante técnica convencional para MEB no exhiben la periodicidad típica del colágeno y resultan de un grosor mayor que cuando son observadas con MET, quizás debido a un fenómeno de recubrimiento por parte de componentes de la sustancia fundamental o por el sombreado metálico necesario en esta técnica.

En las superficies de fractura observadas a bajos aumentos existe una disposición en arcadas de las fibras, pero no se ha podido demostrar cuáles son los elementos (colágeno, proteoglucanos, células) que determinan la dirección de la fractura.

En lo que se refiere a la organización fibrilar, vista con grandes aumentos al MEB, se puede superponer con las zonas descritas con el MET. La compartimentación de la matriz mediante MEB se ve limitada por la deplección de componentes matriciales que conlleva el procesado de la pieza, de manera que no son visibles los compartimentos pericelular y territorial con la precisión del MET [CLARKE, 1974].

Se han ido perfeccionando progresivamente las técnicas de procesado [GARDNER y cols., 1981] en un intento de minimizar los posibles artefactos, de modo que los datos obtenidos mediante MEB concuerden con los obtenidos con el MET, pudiéndose considerar que ambas técnicas se complementan [BROOM y MARRA, 1986].

El interés que suscitan la composición, estructura y organización espacial del cartílago articular es debido a que la red colágena se considera el lugar donde se producen los cambios bioquímicos más tempranos en el proceso degenerativo osteoartrosico. De tal manera, la tumefacción y el incremento del contenido de agua iniciales que se producen, tanto en la osteoartrosis humana como en los modelos de osteoartrosis animal, se atribuyen al deterioro de la red colágena [MANKIN y ZARINS, 1975; McDEVITT y MUIR, 1976; MAROUDAS y VENN, 1977; AKIZUKI y cols., 1987].

Se ha llegado a especular sobre si tal vez el deterioro está relacionado con la destrucción o disminución de alguna sustancia de adhesión que intervenga en la unión de las fibras de colágeno y que contribuiría a una mayor estabilidad de la red, haciéndola más resistente a la presión de tumefacción osmótica de los proteoglucanos atrapados en ella [EYRE y cols., 1987b]. De ahí que los numerosos estudios bioquímicos, inmunohistoquímicos, etc., destinados a identificar los distintos

componentes matriciales colágenos y las interacciones existentes entre ellos y con otras moléculas matriciales, pretenden obtener respuestas a cuestiones tales como [MAYNE e IRWIN, 1986]:

- El mecanismo que controla el diámetro de las fibrillas de colágeno, la relación que éste guarda con la edad y las consecuencias funcionales que puede acarrear la formación de fibras más gruesas.
- El tipo de proteínas que se requieren para mantener en buen estado la red colágena del cartílago articular.
- La posible existencia de una interacción directa entre la red y los macroagregados de PG.

En lo que se refiere a los tipos de colágeno que integran la red fibrilar del cartílago articular, si bien el colágeno tipo II es el más abundante, no es el único existente.

EYRE y cols. [1987b] han identificado cinco tipos de colágeno genéticamente distintos en el cartílago articular bovino adulto, colágenos tipo II (90-95% del colágeno total), tipo IX (1-2% del total), tipo V (1-2% del total), tipo XI (2-3% del total) y el tipo VI (1-2% del total). (ver tabla II.2)

Tipo de colágeno	Porcentaje (%)
II	90-95
V	1-2
VI	1-2
IX	1-2
XI	2-3

El colágeno tipo II es el componente mayoritario en el cartílago articular y llegó a ser considerado como el único tipo de colágeno existente en él. Ha sido localizado en diferentes especies animales [STRAWICH y NIMNI, 1971; MILLER y LUNDE, 1973; HERBAGE y cols., 1977]. Se trata de un homopolímero de composición $[\alpha 1(\text{II})]_3$ [KÜHN, 1987] que fue aislado por primera vez en el esternón de pollos

con latirismo [MILLER y MATUKAS, 1969; TRELSTAD y cols., 1970; MILLER, 1971; TRELSTAD y cols., 1972].

Aparte de un ligero aumento en sus niveles de treonina y de ácido glutámico, el hecho más característico de las cadenas $\alpha 1(\text{II})$ es su amplia hidroxilación, que se acompaña de una glucosilación aumentada [MILLER, 1971]. El significado del contenido tan elevado de hidroxilisina no es muy claro, pero podría estar relacionado en las interacciones con los PG o en la limitación del diámetro fibrilar [KÜHN y von der MARK, 1978]. Los péptidos de la cadena $\alpha 1(\text{II})$ del pollo muestran varios péptidos homólogos cuando se compara con la cadena $\alpha 1(\text{I})$, sin embargo, su relación es mucho menor con los péptidos de la cadena $\alpha 2(\text{I})$. La secuenciación de los aminoácidos del colágeno tipo II ha mostrado la localización ocasional de más de un aminoácido en las mismas posiciones dentro de la molécula [BUTLER y cols., 1977]. Para explicarlo se propuso la existencia de una cadena $\alpha 1(\text{II})$ mayor y una cadena $\alpha 1(\text{II})$ menor, que se presentan con una proporción de 7 a 1. Se considera que las dos cadenas son productos de genes estructurales separados y no de genes alélicos.

Los intentos de encontrar síntesis de colágeno tipo I en el cartilago articular de conejos [BENYA y NIMNI, 1979] y perros [EYRE y cols., 1980] fracasaron. Solamente se encontró una mezcla de colágenos tipos I y II en las regiones periféricas del estrato superficial del cartilago articular del mandril, mientras en los estratos profundos sólo había colágeno tipo II [STANESCU y cols., 1976].

La biosíntesis del procolágeno tipo II no ha sido tan estudiada como la del tipo I pero, en general, resultan bastante similares. En el procolágeno tipo II los péptidos de extensión se encuentran en ambos extremos, amino y carboxilo-terminal. Ambas extensiones contienen cistina pero los puentes disulfuro intercatenarios sólo se encuentran en el extremo carboxilo terminal [DEHM y PROCKOP, 1973; MERRY y cols., 1976; UITTO, 1977; UITTO y cols., 1977]. En el procolágeno tipo I encontramos manosa en el extremo carboxilo terminal, mientras que en el tipo II este azúcar se encuentra en ambos extremos [GUZMAN y cols., 1978]. La secreción del procolágeno tipo II parece tener lugar más lentamente que la del tipo I [MÜLLER y JAMHAWI, 1974; UITTO y PROCKOP, 1974; HARWOOD y cols., 1975; 1977]. La hidroxilación de los residuos de lisina comienza mientras las cadenas todavía se encuentran unidas a los ribosomas del RER, pero los puentes disulfuro intercatenarios sólo se forman cuando las cadenas se liberan de los ribosomas y se encuentran en el RER [HARWOOD y cols., 1975; 1977; OOHIRA y cols., 1979]. La pérdida de las extensiones terminales amino o carboxilo del procolágeno tipo II, producida por proteasas específicas, no parece tener un orden preferencial [UITTO, 1977; UITTO y cols., 1979], mientras que en algunos tejidos, el procolágeno tipo I pierde primero el extremo amino.

El colágeno tipo IX, que por definición pudiera ser considerado también como un proteoglicano, se reconoce en el cartilago, donde constituye entre el 1 y 10% del total de los colágenos [SVOBODA y cols., 1988]. Representa el 20% de la cantidad determinada para el colágeno tipo II [YASUI y cols., 1984; VAUGHAN y cols., 1987], habiéndose demostrado la existencia de uniones covalentes entre las moléculas de ambos [EYRE y cols., 1987a]. Sus tres cadenas distintas $\alpha 1(\text{IX})$, $\alpha 2(\text{IX})$ y $\alpha 3(\text{IX})$, que tienen un peso de 84, 66 y 72 kDa respectivamente, constituyen una triple hélice cuya longitud es 0,6 veces la de los colágenos tipos I, II, III, V y XI. [IRWIN y cols., 1985; NINOMIYA y cols., 1985, 1989; van der REST y cols., 1985; IRWIN y MAYNE, 1986; McCORMICK y cols., 1987; van der REST y MAYNE, 1987, 1988; AYAD y cols., 1989; VUORIO y De CROMBRUGGHE, 1990].

Este colágeno se caracteriza por la posesión de glucosaminoglucanos, probablemente condroitín y dermatán sulfato, unidos covalentemente a la cadena $\alpha 2$ [BRUCKNER y cols., 1985; HUBER y cols., 1986; IRWIN y MAYNE, 1986; KONOMI y cols., 1986].

Las moléculas del colágeno tipo IX se han localizado, gracias a la utilización de técnicas de inmunoelectromicroscopía, sobre la superficie de las fibras de colágeno tipo II del cartilago, adoptando una distribución D-periódica a lo largo de la fibra, de manera que las cadenas condroitín-sulfato se disponen en íntimo contacto con la fibrilla [VAUGHAN y cols., 1988]. Se observa una mayor concentración en la intersección de las fibras [MULLER-GLAUSER y cols., 1986] y parece ser más abundante en la matriz próxima al condrocito, compartimento en el que las fibrillas son especialmente finas [POOLE y cols., 1988b].

Se le atribuye también una posible función de adhesión derivada de hipotéticas interacciones específicas con otros componentes matriciales del cartilago [EYRE y cols., 1987b], pudiendo participar en interacciones iónicas con los glucosaminoglucanos del cartilago [VASIOS y cols., 1988].

Las interacciones entre los colágenos tipos IX y II están estabilizadas por la existencia de enlaces covalentes intermoleculares cruzados [EYRE y cols., 1987a; van der REST y MAYNE, 1988]. Los enlaces cruzados y la cadena lateral de glucosaminoglucanos sugieren que el colágeno tipo IX tendría un papel mediador en la interacción entre los dos componentes principales de la matriz extracelular del cartilago: colágeno tipo II y proteoglicanos [van der REST y MAYNE, 1988].

La localización de colágeno tipo IX sobre la superficie de las fibras del colágeno tipo II también sugiere una importante intervención en la regulación del diámetro de las fibras [van der REST y MAYNE, 1987; NINOMIYA y cols., 1989]. Aparentemente la presencia del colágeno tipo IX va acompañada de una reducción en el tamaño (calibre) de los agregados de las fibras de colágeno tipo II. El hecho de que se localice siempre sobre las fibras finas, que aparecen en concentración más alta en la proximidad de la célula, hace creer que el colágeno tipo IX pueda funcionar en el cartilago como un regulador del diámetro fibrilar [WATTON y cols., 1988].

En el colágeno tipo V se han identificado tres cadenas alfa distintas, $\alpha 1(V)$, $\alpha 2(V)$ y $\alpha 3(V)$. La molécula más frecuente es la compuesta por $[\alpha 1(V)]_2\alpha 2(V)$, aunque también se ha observado la combinación $[\alpha 1(V)]_3$. Sin embargo la cadena $\alpha 3(V)$ sólo ha podido ser identificada en un limitado número de tejidos y siempre formando parte de moléculas de composición $\alpha 1(V)\alpha 2(V)\alpha 3(V)$ [MAYNE y BURGESSON, 1987; FESSLER y FESSLER, 1987].

En el colágeno tipo XI existen tres cadenas distintas, $\alpha 1(XI)$, $\alpha 2(XI)$ y $\alpha 3(XI)$, siendo la molécula predominante en el cartilago $[\alpha 1(XI)\alpha 2(XI)\alpha 3(XI)]$ [MORRIS y BACHINGER, 1987; MORRIS, 1988]. Las cadenas $\alpha 1(XI)$ y $\alpha 2(XI)$, genéticamente distintas entre sí, se parecen mucho a las cadenas $\alpha 1(V)$ y $\alpha 2(V)$, mientras que la cadena $\alpha 3(XI)$ es genéticamente idéntica a la $\alpha 1(II)$ [EYRE y WU, 1987].

La interacción específica aparentemente observada entre el colágeno tipo XI y los glucosaminoglucanos sulfatados, que parece no existir con el colágeno tipo II [SMITH y cols., 1985], haría considerar al colágeno tipo XI como mediador en las interacciones físicas de las fibrillas de colágeno y los proteoglucanos del cartilago.

Por otro lado y mediante estudios *in vitro*, se ha observado que el colágeno tipo XI se encuentra, de forma preferente, asociado a la superficie del condrocito, lo que induce a pensar que pudiera estar involucrado en la organización de la matriz pericelular [SMITH y cols., 1989].

El colágeno tipo VI se ha localizado tanto en tejidos cartilaginosos como no cartilaginosos. Su molécula es una combinación de tres cadenas distintas $\alpha 1(VI)$, $\alpha 2(VI)$ y $\alpha 3(VI)$ [JANDER y cols., 1984; TIMPL y ENGEL, 1987; CHU y cols., 1988, 1989].

Habitualmente el colágeno tipo VI se presenta en los tejidos en forma de agregados. Los monómeros forman dímeros que se agregan lateralmente formando tetrámeros no escalonados y fuertemente estabilizados por un gran número de uniones disulfuro. La estabilidad estructural del tetrámero es tan grande que éste se comporta como un equivalente molecular, pudiendo, incluso, ser solubilizado y extraído del tejido con pepsina [JANDER y cols., 1983; von der MARK y cols., 1984; KUO y cols., 1989].

Mediante la utilización de anticuerpos se ha comprobado que el colágeno tipo VI se localiza en distintos tejidos conectivos [LINSENMAYER y cols., 1986; TIMPL y ENGEL, 1987], incluido el cartilago [HESSLE y ENGVALL, 1984], no apareciendo una distribución restringida a zonas histológicamente identificables ni específicas, observándose su ausencia en las membranas basales.

Con la inmunolocalización ultraestructural se demuestra que no existe una asociación directa del colágeno tipo VI con las fibrillas colágenas estriadas, al mismo tiempo que el marcaje se localiza en redes fibrilares muy finas que presentan una periodicidad de 100 nm [von der MARK y cols., 1984; BRUNS y cols., 1986]. Dichas redes se forman por la asociación extremo a extremo de los tetrámeros del colágeno tipo VI [ENGVALL y cols., 1986].

Aunque se desconoce su función, ultraestructuralmente parece ser un sistema fibroso independiente, posiblemente importante en el mantenimiento de la separación espacial entre los diferentes componentes tisulares y los grandes fascículos de fibras colágenas estriadas, al mismo tiempo que proporciona unidad estructural a la totalidad del tejido conjuntivo. Se ha considerado la posible participación del colágeno tipo VI en la adhesión y extensión de los fibroblastos [CARTER, 1982], así como la existencia de un posible "reconocimiento" celular de la red. Aparentemente, participa en el ordenamiento espacial de las estructuras tisulares, en las interacciones interfibrilares entre los PG y las fibrillas [EYRE y cols., 1987b], así como en el anclaje de la red fibrilar [KEENE y cols., 1988]. Su interacción con las estructuras colagénicas es muy probable, pues posee secuencias repetitivas sorprendentemente similares a las ligadoras de colágeno existentes en las proteínas matriciales del cartilago [KOLLER y cols., 1989].

El colágeno tipo VI se ha localizado ultraestructuralmente en el cartilago hialino mediante anticuerpos monoclonales previamente utilizados en estudios similares de tejidos no cartilaginosos, observándose una disposición pericondrocitaria en el carti-

lago costal humano [KEENE y cols., 1988]. Esta localización en la matriz pericelular se ha relacionado con una posible función de mantenimiento de la integridad de la condrona y con la protección del condrocito en la dinámica de cargas compresivas [POOLE y cols., 1988a]. Se ha observado que en el cartílago articular experimentalmente artrósico se produce un enriquecimiento en colágeno tipo VI [McDEVITT y cols., 1988].

Citamos aquí el colágeno tipo X, una cadena corta que no forma fibras, ya que su producción es específica de los condrocitos hipertróficos de los cartilagos de crecimiento fetales [CASTAGNOLA y cols., 1986]. Este colágeno fue identificado en la matriz extracelular de cartilagos articulares fibrilado u osteoartrítico, pero no en el cartílago articular normal [von der MARK y cols., 1992b]. Parece estar involucrado en la calcificación del cartílago y se asocia a las vesículas de la matriz [HABUCHI y cols., 1985].

La producción del colágeno tipo X puede verse modulada por los agregados de PG y por la fibronectina [THOMAS y GRANT, 1988]. Se ha observado una producción elevada de colágeno en el raquitismo, que reflejaría un incremento en el nivel de síntesis de colágeno tipo X por las células hipertróficas. Esta superproducción se interpreta como un posible mecanismo compensatorio mediante el que los condrocitos hipertróficos intentan proporcionar el máximo de matriz calcificable a un hueso pobre en calcio [REGINATO y cols., 1988].

II.2.1.2.2.- Los proteoglicanos

Los elementos fibrilares matriciales y las células del cartílago articular están inmersos en una especie de gel poco denso, translúcido y sin organización estructural aparente al MO, denominado habitualmente *sustancia fundamental amorfa*. Dicho gel es soluble en medios acuosos, por lo que se pierde en parte durante los procesos de fijación habituales. Con técnicas de fijación apropiadas se puede reducir la pérdida de los componentes de la sustancia amorfa. Presenta unas afinidades tintoriales muy definidas: se colorea con la técnica de PAS para los hidratos de carbono y con los colorantes catiónicos (azul de toluidina, safranina O, hematoxilina, etc.). Estas afinidades se deben a los glucosaminoglucanos (GAG), elementos constituyentes de las diferentes moléculas de proteoglicanos (PG) que componen la sustancia amorfa.

Los PG son moléculas complejas integradas por una proteína central a la que se unen covalentemente los GAG [MUIR, 1979; HASCALL y KIMURA, 1982]. Las

proteínas centrales de los PG conocidos varían en tamaño oscilando desde 11.000 daltons [BOURDON y cols., 1985, 1986] hasta aproximadamente 220.000 daltons [DOEGE y cols., 1987]. El número de GAG que se unen a la proteína central varía desde 1 [PEARSON y cols., 1983] hasta aproximadamente 100 [RODÉN y cols., 1985]. Ciertos PG contienen unidos, además, N-oligosacáridos y O-oligosacáridos, y otros poseen territorios funcionales separados de los lugares de anclaje de GAG. Estos dominios sirven, bien para el anclaje de los PG a la membrana celular, o bien intervienen en la unión a otros componentes de la matriz extracelular tales como el colágeno y la fibronectina (decorina), o al ácido hialurónico (macroagregados del cartilago) [RUOSLAHTI, 1988b].

Los GAG varían también en cuanto a su tamaño y estructura, y ya que el comportamiento físico de los PG es debido a las propiedades de los GAG, el contenido de éstos es el criterio que se utiliza para la clasificación de los PG.

Los GAG, antes denominados mucopolisacáridos, son cadenas no ramificadas de polisacáridos, constituidos por unidades repetidas de disacáridos. Uno de los azúcares de dicha unidad es siempre un aminoazúcar, concretamente una hexosamina (N-acetilglucosamina o N-acetilgalactosamina), al que deben los GAG su actual denominación. Los residuos de azúcares poseen grupos sulfato, grupos carboxilo o ambos a la vez, que proporcionan a los GAG una intensa carga negativa determinante de su comportamiento y afinidades químicas.

Las cadenas de polisacáridos son modificadas en el aparato de Golgi mediante reacciones secuenciales de sulfatación y epimerización coordinadas. Seguidamente y antes de ser segregados por la célula, los GAG se unen covalentemente a los residuos de serina de una proteína eje, constituyéndose así la molécula de PG. Las cadenas de GAG están ligadas a la proteína axial por un extremo e irradian de ella a semejanza de las fibras de un cepillo "limpiatubos".

Los GAG son cadenas lineales rígidas que permanecen muy extendidas, ocupando un volumen enorme en relación a su masa. Son estructuras con una gran apetencia por el agua que se ve favorecida porque su gran densidad de cargas negativas atrae cationes osmóticamente activos. De este modo, forman geles grandemente hidratados aun cuando la concentración de GAG sea baja. Un medio de tan alto contenido hídrico permite la fácil difusión de moléculas hidrosolubles, el desarrollo de los procesos celulares y la migración celular.

Los GAG se clasifican en **cuatro tipos principales** (tabla II.3):

- heparina/heparán sulfato,
- condroitín sulfato/dermatán sulfato,

- queratán sulfato y
- ácido hialurónico.

La unidad disacárida en la heparina, el heparán sulfato y el ácido hialurónico, está integrada por N-acetilglucosamina y ácido glucurónico. En el condroitín y dermatán sulfato consta de N-acetilgalactosamina y ácido glucurónico. Finalmente, en el queratán sulfato la unidad disacárida se compone de N-acetilglucosamina y galactosa.

Glucosaminogucano	Unidad disacárida
Heparina/Heparán sulfato	N-acetilglucosamina + ácido glucurónico
Ácido hialurónico	N-acetilglucosamina + ácido glucurónico
Chondroitín sulfato/Dermatán sulfato	N-acetilgalactosamina + ácido glucurónico
Queratán sulfato	N-acetilglucosamina + galactosa

Como hemos visto, existen unas características más o menos comunes que, en mayor o menor grado, distinguen y permiten la clasificación de los GAG:

- 1.- Sus azúcares están sulfatados en grados variables.
- 2.- Están unidos covalentemente a proteínas.
- 3.- Tienen un gran volumen hidrodinámico.
- 4.- Interactúan con otras moléculas.

El ácido hialurónico es un excepción con respecto a los apartados 1 y 2, puesto que no está sulfatado y puede existir como un GAG libre [LINDAHL y HÖÖK, 1978; RODÉN, 1980].

Casi todas las proteínas de la matriz extracelular tienen lugares de unión para los GAG; entre ellas se encuentran la fibronectina [RUOSLAHTI, 1988a], los colágenos intersticiales [KODA y BERNFIELD, 1984], la laminina [MARTIN y TIMPL, 1987], la vitronectina [SUZUKI y cols., 1985] y la tromboespondina [DIXIT y cols., 1984]. Asimismo, muchos factores de crecimiento tienen lugares de unión para los GAG; entre ellos algunas formas de factores de crecimiento de fibroblastos y de células endoteliales muestran una afinidad por los GAG particularmente alta [GOSPODAROWICZ y cols., 1987; BERMAN y cols., 1987]. El grado de interacción de los GAG parece ser proporcional a su densidad de carga. Esto se pone de manifiesto ante el hecho de que el dextrán-sulfato, un carbohidrato sintético altamente sulfatado, es tan activo como la heparina para unirse a moléculas como la fibronectina [RUOSLAHTI, 1988a]. Por lo tanto, no existiría especificidad en la mayoría de las interacciones de los GAG con otras moléculas. El tamaño del GAG es también un factor importante, puesto que las cadenas largas interactúan más fuertemente que las pequeñas. Como excepción importante de la falta de especificidad, debemos citar la unión de algunas proteínas centrales de

proteoglucanos al ácido hialurónico [GOETINCK y cols., 1987] para formar grandes agregados mediante la unión no covalente de varios proteoglucanos a lo largo de una cadena de ácido hialurónico.

La heparina es el GAG más altamente sulfatado, seguida por el heparán-sulfato y el dermatán-sulfato, siendo el condroitín-sulfato el GAG menos sulfatado. En consecuencia, la heparina es el GAG que tiene mayor actividad ligadora, seguida del heparán y dermatán-sulfato que tienen una afinidad moderada. Las cadenas de condroitín-sulfato libre, a excepción de la unión a ciertos colágenos [ÖBRINK y cols., 1975], carecen de actividad ligadora apreciable frente a ligandos que se unen a heparina [KODA y BERNFIELD, 1984]. Sin embargo, cuando las cadenas de condroitín-sulfato forman parte de un proteoglucano pueden interactuar con ligandos como la fibronectina, el colágeno o la vitronectina [OLDBERG y RUOSLAHTI, 1982; SUZUKI y cols., 1984]. En consecuencia, los proteoglucanos condroitín-sulfato pueden inhibir la unión celular a la fibronectina.

Aunque las proteínas centrales de los PG son diferentes, presentan ciertas características comunes. De este modo, las distintas y múltiples secuencias "señal" para la unión de GAG constituyen en algunas proteínas centrales lo que se denomina *territorios o dominios de anclaje para los GAG* [OLDBERG y cols., 1987].

Se puede decir que la proteína central está compuesta de dominios o territorios similares a los de otras proteínas. Además de los dominios mencionados, la porción amino-terminal de la proteína central en el cartilago es muy similar a la de otra proteína que se une al ácido hialurónico, la *proteína de unión del cartilago* [NEAME y cols., 1987].

Los PG de las vesículas sinápticas pueden incorporarse a la matriz extracelular después de la secreción [STADLER y KIENE, 1987], de lo que se deduce que existe una superposición de los PG de los gránulos intracelulares y los de la matriz extracelular.

Los *PG de la matriz extracelular* son un grupo heterogéneo en el que se incluyen PG tipo condroitín-sulfato/dermatán-sulfato y tipo heparán sulfato. El primer tipo se encuentra en los tejidos conectivos mesenquimales y el segundo en las membranas basales epiteliales. Los PG matriciales más característicos son: los grandes PG condroitín-sulfato del cartilago [DOEGE y cols., 1987] y de los fibroblastos [KRUSIUS y cols., 1987], la decorina de los fibroblastos [SCHMIDT y cols., 1987] y el gran PG heparán-sulfato de las membranas basales [LEDBETTER y cols., 1987]. Existen otros diferentes PG de la matriz que no han sido clonados, llegando a estar incluso, en algunos casos, restringida su producción a unos tipos de células determinados.

Aunque es necesaria la clonación de las proteínas centrales para la clasificación definitiva de los PG, su caracterización bioquímica es un índice suficiente de que los PG son mucho más heterogéneos de lo que sugieren los ejemplos anteriores

y de que cada tipo de célula puede producir PG diferentes [SOMMARIN y HENEGÅRD, 1986]. Los PG matriciales se unen a otras moléculas de la matriz, usualmente mediante las interacciones de los GAG con los lugares de unión de la proteína matricial. En otras ocasiones, como es el caso de la decorina, se unen a las proteínas (colágeno y fibronectina) a través de su proteína central [SCHMIDT y cols., 1987]. El lugar de unión en el colágeno es específico, ya que los PG se localizan en las estriaciones de éste con la característica periodicidad de 67 nm interviniendo en la regulación del grosor de las fibras colágenas [VOGEL y cols., 1984; VOGEL y TROTTER, 1987].

En consecuencia, los PG pueden mantener unidos varios componentes de la matriz, participando en la estructuración de ésta en el siguiente nivel de organización. Tal afirmación viene sugerida por el hecho de que los PG y los GAG pueden aumentar la interacción entre la fibronectina y el colágeno [RUOSLAHTI y PIERSCHBACHER, 1987]. Del mismo modo, parece ser que los proteoglucanos heparán sulfato unidos a la superficie celular contribuyen en la unión de las células a la fibronectina [RUOSLAHTI, 1988a], reforzando la adhesión celular. Por el contrario, los PG condroitín-sulfato/dermatán-sulfato, tiene un efecto opuesto sobre la adhesión celular. Los grandes PG del cartilago, la serglicina y los pequeños PG dermatán-sulfato relacionados con la decorina pueden inhibir el anclaje de las células a la fibronectina o al colágeno tipo I. Estos PG, ocupan los lugares de unión (para GAG o para proteína central), impidiendo la unión de los PG de la superficie celular a dicha proteína, y/o cubren completamente los lugares de unión celular [KNOX y WELLS, 1979; TS'AO y EISENSTEIN, 1981; SCHMIDT y cols., 1987]. Este efecto inhibitorio sobre la adherencia celular puede ser el origen de la capacidad de los PG para inhibir la migración celular [FUNDERBURG y MARKWALD, 1986; PERRIS y JOHANSSON, 1987]. Ya que para la migración es imprescindible la adherencia celular, ésta debe ir acompañada de cambios en la síntesis de PG [KINSELLA y WIGHT, 1986]. Aun cuando los PG no son imprescindibles para la supervivencia de células individuales [ESKO y cols., 1986, 1987], sí existen indicios de que los PG regulan la diferenciación y la proliferación celulares. Este es el caso de los grandes agregados de PG del cartilago que actúan sobre las células mesenquimales con aspecto de fibroblasto, precursoras de los condrocitos. Si bien estas células no sintetizan estos PG, su producción es uno de los signos más tempranos de su diferenciación condrocitaria [GOETINCK, 1982]. La inhibición de la adhesión celular, originada por los PG, es fundamental en el mantenimiento de la diferenciación del condrocito [WEST y cols., 1979]. Los PG de la superficie celular (heparán-sulfato) de algunas células, parecen ejercer un efecto inhibitorio sobre la proliferación de las mismas [ISHIHARA y cols., 1987].

La matriz extracelular del cartilago se compone, en su mayor parte, de un gel de PG altamente concentrado (más de 100 mg/ml) que permanece inmovilizado por la red fibrilar colágena. Si bien los PG son extremadamente hidrofílicos, no alcanzan su volumen de hidratación máximo debido a la limitación que sobre su expansión ejerce la red prácticamente inextensible de colágeno. De esta manera, en condiciones de

equilibrio, la presión de tumefacción (imbibición) que genera el gel de PG es igualada por las fuerzas de tensión que desarrolla la red fibrilar. Por lo tanto, los PG proporcionan al tejido consistencia (resistencia) y elasticidad, puesto que indirectamente juegan un papel modulador de la rigidez (dureza) de la red colágena a través de su presión osmótica [MIZRAHI y cols., 1986].

A pesar de la variabilidad topográfica de la composición de la matriz del cartilago, los PG constituyen aproximadamente el 30% o 35% del peso seco del cartilago, y se caracterizan por su alto Pm, aproximadamente mayor de 3.5×10^6 daltons [HEINEGÅRD y PAULSSON, 1984].

El componente carbohidratado de los PG, constituido por GAG unidos covalentemente a la proteína central, representa el 90% del peso total de la molécula. La mayoría de los GAG son condroitín sulfato y queratán sulfato, de manera que un monómero de PG tipo puede estar formado por hasta 100 cadenas de condroitín sulfato (Pm: 15.000-20.000 daltons) [HARDINGHAM y cols., 1987] y más de 50 cadenas de queratán sulfato (Pm: 5.000-8.000 daltons) [HASCALL y RIOLO, 1972], además de oligosacáridos de bajo peso molecular en un número aproximado de 50 cadenas de oligosacáridos unidos a oxígeno y 10-15 cadenas de oligosacáridos unidos a nitrógeno [THONAR y SWEET, 1979; LOHMANDER y cols., 1980] (tabla II.4).

Glucosaminoglucano	Nº de cadenas	Peso molecular	Autores
Condroitín sulfato	100	150.000-200.000	HARDINGHAM y cols., 1987
Queratán sulfato	50	5.000-8.000	HASCALL y RIOLO, 1972
Oligosacáridos unidos a O	50	bajo	THONAR y SWEET, 1979 LOHMANDER y cols., 1981

En condiciones fisiológicas, los monómeros de PG pueden interactuar específicamente con otro GAG, el ácido hialurónico, mediante el extremo globular de su proteína central conocido como "*Región de Unión al Ácido Hialurónico*" (HABR) [HARDINGHAM y cols., 1983; STEVENS y cols., 1984; HEINEGÅRD y cols., 1986], formando así agregados poliméricos enormes [HASCALL y HEINEGÅRD, 1974]. Los macroagregados de PG están estabilizados por una glucoproteína denominada *proteína de unión* [HARDINGHAM, 1979].

La inmovilización de los PG por parte de la red de colágeno se ve facilitada por el gran tamaño de los macroagregados y por la interacción específica que se establece entre cierta porción de éstos y el colágeno [ORFORD y GARDNER, 1984].

La característica dominante de los PG del cartilago es su contenido de GAG, siendo los más abundantes el condroitín-4-sulfato, el condroitín-6-sulfato, el queratán sulfato, el dermatán sulfato y el ácido hialurónico [HARDINGHAM, 1986].

El condroitín sulfato es el GAG más abundante en el cartilago y su unidad disacárida se compone de ácido glucurónico y de N-acetilgalactosamina. Dicha unidad puede estar sulfatada en las posiciones C₄ o C₆ de la galactosamina, en función de lo cual se le denomina condroitín-4-sulfato (condroitín sulfato A) o condroitín-6-sulfato (condroitín sulfato C) respectivamente [HEINEGÅRD y HASCALL, 1974a; MICHELACCI y DIETRICH, 1976].

El queratán sulfato puede constituir del 5 al 20% del contenido total de GAG en el cartilago y se observa que varía en función de la edad [ELLIOT y GARDNER, 1979]. La unidad disacárida de repetición de este GAG está formada por galactosa y N-acetilglucosamina, de manera que, a diferencia de los otros GAG, carece de ácido urónico.

El ácido hialurónico, único GAG del cartilago no sulfatado y que no se une a proteína, está formado por unidades disacáridas constituidas por ácido glucurónico y N-acetilglucosamina [HJERTQUIST y LEMPERG, 1972]. Representa una proporción pequeña del total de los GAG del cartilago (menos de un 6% peso/peso en el cartilago humano) [ELLIOT y GARDNER, 1979], pero el papel bioquímico y fisiológico que desempeña es muy importante, al ser fundamental en la formación de agregados de PG.

Al igual que ocurre en otras glucoproteínas, los PG tienen unidos covalentemente a su proteína central oligosacáridos unidos a N y oligosacáridos unidos a O [THONAR y SWEET, 1979]. No se conoce la función de los oligosacáridos unidos a N. Parece que no son necesarios para la interacción PG-ácido hialurónico o con la proteína central de unión, pero ya que influyen en el plegado de la molécula de ciertas glucoproteínas, podrían también intervenir en la configuración final de los PG [LOHMANDER y cols., 1983].

Los oligosacáridos unidos a O se distribuyen dispersamente a lo largo de la proteína central [LOHMANDER y cols., 1980].

Los PG se clasifican en virtud de su tamaño, carga y proporciones relativas de queratán sulfato, condroitín sulfato y proteína central [HARDINGHAM, 1986].

Los GAGs se anclarán en lugares específicos de la proteína central [BOURDON y cols., 1987; OLDBERG y cols., 1987] y del colágeno tipo IX [McCORMICK, 1987].

Los PG tisulares presentan proteínas centrales de tamaño muy variable ($200-300 \times 10^3$ daltons) [STEVENS y cols., 1984], pero se ha detectado intracelularmente una forma precursora de la proteína central con un Pm relativamente constante [KIMURA y cols., 1981]. Esto sugiere que, una vez sintetizados, los PG podrían poseer proteínas centrales de tamaño casi uniforme y que sería su exposición a la actividad proteolítica en la matriz extracelular la que causaría el incremento de la polidispersión [LOHMANDER y KIMURA, 1986].

En la proteína central del PG del cartilago se distinguen tres regiones: una *región globular o HABR*, la *región rica en queratán sulfato*, adyacente a la anterior y a continuación la *región rica en condroitín sulfato*.

La *región de unión al ácido hialurónico o HABR*, con un Pm de aproximadamente 65.000 daltons, supone la cuarta parte de la proteína central. Forma un territorio globular que está rodeado de manera uniforme por oligosacáridos unidos a N fundamentalmente, y algún queratán sulfato [HARDINGHAM y cols., 1983]. Este territorio se mantiene plegado mediante interacciones hidrofóbicas y, al menos, 5 a 7 uniones disulfuro, fundamentales para la unión de la proteína al ácido hialurónico [STEVENS y cols., 1984] y su estructura es muy similar en tejidos diferentes de distintas especies [HEINEGÅRD y cols., 1986].

En la *región rica en queratán sulfato*, de un Pm aproximado de 20.000 daltons, se anclan la mayor parte de las cadenas de queratán sulfato y una pequeña proporción de condroitín sulfato [HEINEGÅRD y AXELSSON, 1977]. La gran riqueza en carbohidratos de esta región (condroitín sulfato: aproximadamente 5 cadenas con un Pm medio de 20.000 daltons; queratán sulfato: aproximadamente 10 o 15 cadenas con un Pm medio de 8.000 daltons y oligosacáridos unidos a O, etc.) la protege de la digestión proteolítica.

La mayor parte de la proteína central del PG corresponde a la *región rica en condroitín sulfato*. Aquí se sitúan casi todas las cadenas de condroitín sulfato y

alrededor del 30% de las queratán sulfato, además de importantes cantidades de oligosacáridos unidos a O. Al parecer, las cadenas de condroitín sulfato, cuando se anclan en la proteína central, se sitúan muy próximas entre sí, disponiéndose en grupos separados entre los que se interponen secuencias más largas de aminoácidos [HEINEGÅRD y HASCALL, 1974b], que hacen a esta región más susceptible a la rotura proteolítica. De tal manera, las secciones rígidas que alternan con segmentos flexibles observadas en la proteína central del PG, podrían corresponder a los segmentos de mayor concentración de condroitín sulfato y a las secuencias no ocupadas por GAG, respectivamente, pudiendo estas últimas actuar como regiones bisagra [TORCHIA y cols., 1983].

La mayoría de los monómeros de PG del cartilago se unen al ácido hialurónico y a glucoproteínas de unión formando grandes agregados multimoleculares [HARDINGHAM y MUIR, 1972]. Los monómeros de PG se unen a una cadena extendida de ácido hialurónico y constituyen la conocida estructura en "cepillo limpiatubos" [ROSENBERG y cols., 1975]. En la interacción específica del monómero de PG con el ácido hialurónico interviene la porción globular de la proteína central del PG denominada HABR. La unión ácido hialurónico-HABR es de tipo no covalente y resulta muy sensible a los cambios en la conformación de ambos, ácido hialurónico y HABR [HARDINGHAM y cols., 1976]. Dicha unión está estabilizada por una proteína de unión, cuya función principal es el anclaje del monómero de PG de manera tan firme que bajo condiciones fisiológicas es esencialmente irreversible (HEINEGÅRD y HASCALL, 1974b; HARDINGHAM, 1979; BUCKWALTER y cols., 1984).

Se distinguen dos tipos de monómeros de PG en función de su tamaño, los monómeros de alto peso molecular y los monómeros de bajo peso molecular. Cada uno de estos tipos de poblaciones se divide en función de la capacidad o incapacidad de formar agregados: grandes monómeros de PG agregantes (el tipo descrito) y no agregantes, y monómeros de PG pequeños agregantes y no agregantes [HEINEGÅRD y PAULSSON, 1984].

Los monómeros no agregantes se distinguen de los agregantes por múltiples características, entre ellas la carencia de HABR. Si bien los monómeros no agregantes pueden ser el resultado de la degradación de monómeros agregantes, existen otros que representan una población o poblaciones de PG genéticamente distintos. Entre los PG no agregantes se incluyen la decorina, el biglucano y la fibromodulina [ROUGHLEY, 1993]. La decorina y la fibromodulina interactúan con las fibras de colágeno y el biglucano se acumula en las regiones pericelulares.

Entre los PG (monómeros) de bajo peso molecular se incluyen los más pequeños que contienen dermatán sulfato y que han sido identificados en la matriz del cartilago articular. Estas moléculas no forman grandes agregados y pueden tener relaciones específicas con las fibras de colágeno [ROSENBERG y cols., 1985b].

Podemos hacernos una ligera idea de la gran polidispersión sólo con tener en cuenta que dentro de cada uno de los tipos de PG (monómeros) existe una gran variabilidad. Así, entre los PG (monómeros) no agregados la variación puede afectar a la proteína central, bien porque sea genéticamente distinta o tenga diferente longitud; al número de cadenas de GAG en lo que respecta al número total, al tipo o a la proporcionalidad de los distintos tipos de GAG y a la longitud de las cadenas de GAG. Si bien, hay que decir que en un mismo monómero no suelen existir diferencias en la longitud de las cadenas de un mismo tipo de GAG. Del mismo modo, la distancia entre las cadenas de un mismo tipo de GAG es siempre igual [BUCKWALTER y ROSENBERG, 1982; BUCKWALTER, 1983].

En lo que atañe a los macroagregados de PG, la polidispersión puede estar relacionada con la variabilidad del filamento de ácido hialurónico, el número de monómeros de PG unidos al filamento, la separación existente entre monómeros y la gran variabilidad de las características particulares de los monómeros [BUCKWALTER y ROSENBERG, 1983; BUCKWALTER y cols., 1987].

En el cartilago adulto, la polidispersión se hace patente, mientras que en los cartilagos fetales y jóvenes existe una menor variabilidad [ROSENBERG y BUCKWALTER, 1986; THONAR y cols., 1986].

Los PG del cartilago, sus características y concentraciones son muy variables en función de las demandas mecánicas según la zona, la edad, la patología, etc. [MÜLLER y cols., 1989]. En el mismo cartilago se observa, por medio de tinciones específicas con colorantes catiónicos, una distribución diferente según la profundidad, de tal forma que la captación de Safranina O es mayor en la zona más profunda, donde el contenido en glucosaminoglucanos es mayor que en la superficie [HIRSCH, 1944; STOCKWELL y SCOTT, 1967; ROSENBERG, 1971; LEMPERG y cols., 1974; BAYLISS y cols., 1983b; RATCLIFFE y cols., 1984].

Hay una variación significativa en el tamaño y densidad de los PG en las diferentes zonas o regiones del cartilago articular sin calcificar. Desde la superficie hasta la profundidad, el número de gránulos de PG aumenta mientras que su diámetro

disminuye. [PAUKKONEN y HELMINEN, 1987a]

En la periferia del condrocito, el número de gránulos de PG es mayor en la región o matriz pericelular y desciende hacia la región interterritorial. Por el contrario, el diámetro de los gránulos es menor en la matriz pericelular y aumenta en la región interterritorial [POOLE y cols., 1980; POOLE, 1983; PAUKKONEN y HELMINEN, 1987a]. La alta concentración de gránulos de PG en la matriz pericelular es comprensible si se acepta que la síntesis de PG es más rápida que su difusión hacia la matriz interterritorial. La disminución en el diámetro de los gránulos y el aumento de su número hacia la profundidad concuerda con la observación de que el número de pequeñas subunidades de PG ricos en queratán-sulfato aumenta en el mismo sentido [BAYLISS y cols., 1983b]. Las subunidades pequeñas de PG contienen, proporcionalmente, más cantidad de queratán sulfato que las grandes, ya que la mayor parte del mismo se localiza cerca de la HABR [HEINEGÅRD y AXELSSON, 1977]. Por otro lado, se sabe que la proporción de queratán sulfato aumenta hacia la profundidad del cartilago [JONES y cols., 1977; STOCKWELL, 1979; BAYLISS y cols., 1983b].

La razón por la que aumenta el diámetro medio de los gránulos desde la vecindad del condrocito hacia las matrices territorial e interterritorial podría estar relacionada con la agregación extracelular de subunidades de PG al ácido hialurónico [HASCALL, 1970]. POOLE y cols. [1980] han sugerido que podrían unirse más de un PG en el mismo sitio de la molécula de ácido hialurónico. Si las subunidades de PG de la matriz pericelular no se agregaran al ácido hialurónico, sus gránulos serían menores que los de las matrices territorial e interterritorial, donde al menos parte de los grandes gránulos podrían contener dos o más subunidades de PG unidas a un mismo lugar de unión para PG del ácido hialurónico. Sin embargo, en el cartilago articular normal del conejo, menos del 30% de los PG están en forma agregada. [MOSKOWITZ y cols., 1979; OEGEMA y BEHRENS, 1981].

Otra posibilidad para explicar la polidispersión de los PG estaría relacionada con la degradación de las subunidades de PG. Pudiera ser que todas las subunidades de PG sintetizadas *de novo* tuvieran un núcleo de proteína central idéntico y su tamaño fuera máximo [BUCKWALTER y ROSENBERG, 1982]. De hecho, el diámetro máximo de los gránulos es aproximadamente el mismo en todas las zonas (30 nm) [PAUKKONEN y HELMINEN, 1987a]. La polidispersión de la subunidades de PG podría aumentar cuando son expuestas a la disociación mecánica y/o a la degradación enzimática en el espacio extracelular. La degradación generaría (con una rotura del núcleo proteico) pequeñas subunidades agregantes ricas en queratán sulfato [BAYLISS

y cols., 1983b] y subunidades no agregantes ricas en condroitín sulfato y pobres en queratán sulfato [HARDINGHAM y MUIR, 1974; SANDY y cols., 1978; EHRLICH, 1985].

El primer paso en la degradación de una subunidad de PG podría ser debido, tanto a una disociación mecánica, como a una asociación entre ésta y la acción de proteasas neutras [HOWELL, 1975; SANDY y cols., 1978; EHRLICH, 1985]. Los fragmentos no agregantes, ricos en condroitín sulfato, parecen ser capaces de difundir en la matriz, pero al final son capturados o retenidos en el espacio pericelular. La difusión de estos fragmentos hacia el líquido sinovial es prácticamente despreciable cuando la superficie articular esta intacta [HEINEGÅRD y cols., 1985]. En la matriz pericelular puede darse un cambio en el pH hacia una mayor acidez [HOWELL, 1975]. Bajo estas circunstancias habría una mayor rotura de proteínas centrales y de GAG debida a la intervención de proteasas ácidas y de glucosidasas [ALI y EVANS, 1973; HOWELL, 1975; DINGLE y DINGLE, 1980]. Esta hipótesis sería verosímil si se tiene en cuenta que los gránulos de la matriz pericelular son de menor tamaño y más numerosos que los de la matriz interterritorial. Este modelo también explica por qué el queratán sulfato se acumula en la región interterritorial y tiene un *turnover* más lento que el del condroitín sulfato [STOCKWELL, 1979].

La disminución del tamaño de las subunidades de PG y el aumento de su número hacia la profundidad del cartilago podría depender de la diferencias en la densidad celular a través de las distintas zonas del cartilago sin calcificar [PAUKKONEN y cols., 1984a]. Se cree que la vida media de las moléculas está en relación con su distancia hasta la célula [STOCKWELL, 1979]. Las subunidades de PG en la zona superficial, rica en células, serían moléculas más jóvenes y mayores que las de la zona profunda, que es pobre en elementos celulares. La acumulación de moléculas matriciales fragmentadas ocurriría en esta última zona [PAUKKONEN y HELMINEN, 1987a].

Los proteoglucanos parecen ser necesarios en la fibrilogénesis de moléculas de colágeno [STOCKWELL, 1979]; en este aspecto, el tamaño molecular de las subunidades de PG serían de importancia. El ácido hialurónico y el queratán sulfato no se unen al colágeno, mientras que el condroitín sulfato sí lo hace [ÖBRINK, 1973]. Los PG ricos en condroitín sulfato podrían ejercer un efecto inhibitor sobre el crecimiento de la fibra de colágeno en grosor (diámetro) [SCOTT y cols., 1981b]. El queratán sulfato no interactúa con el colágeno y, por lo tanto, se puede pensar que permite el crecimiento fibrilar continuo, lo que se traduce en unas fibras más gruesas. Todo ello

está de acuerdo con los distintos tamaños de los PG. En los lugares donde los gránulos de la matriz son de mayor tamaño (ricos en condroitín sulfato) las fibras de colágeno son de menor diámetro; en cambio, donde los gránulos son menores (pobres en condroitín sulfato) las fibras de colágeno son más gruesas. Podría ser que, las fibras de colágeno delgadas, al unirse a subunidades de PG grandes y ricas en condroitín sulfato, formasen una matriz más densa en el estrato superficial, lo que impediría la difusión de PG desde el cartilago articular hacia el líquido sinovial.[PAUKKONEN y HELMINEN, 1987a]. Las fibras de colágeno de mayor grosor se encontrarían en las regiones más profundas del cartilago articular [STOCKWELL, 1979; ZAMBRANO y cols., 1982; PAUKKONEN y HELMINEN, 1987a].

II.2.1.2.3.- Otras glucoproteínas

La mayoría de las células no se unen directamente a la matriz extracelular o a los soportes de los cultivos, sino que lo hacen a través de glucoproteínas estructurales que, a su vez, presentan cierta especificidad para los distintos tipos de colágenos e incluso para ciertos tipos celulares.

Han sido descritas varias familias de dichas proteínas (fibronectina, laminina, vitronectina, etc.), pero la que ha sido estudiada en mayor profundidad es la familia de las fibronectinas.

En el cartilago vamos a estudiar la fibronectina, la condronectina y la tenascina.

Fibronectina

La fibronectina es una glucoproteína de adhesión que forma fibrillas extracelulares. Las matrices de fibronectina representan una adhesión celular provisional y un sistema de guía utilizado por las células durante el desarrollo embrionario y en la curación de heridas. Dichas matrices difieren de las matrices extracelulares características de los tejidos adultos estables tales como el hueso, tendón y la lámina basal.

La fibronectina es un componente matricial que existe en forma soluble y en forma de complejos insolubles muy unidos por puentes cruzados, siendo ésta la de mayor importancia funcional.

La molécula de fibronectina está formada por dos polipéptidos asociados mediante dos uniones disulfuro próximas al extremo carboxilo, formando un dímero de un Pm de aproximadamente 550.000 daltons. Las fibronectinas (soluble e insoluble) se encuentran en el plasma de los vertebrados [VUENTO y VAHERI, 1979] y en las matrices del tejido conjuntivo de ciertos tejidos embrionarios y en la mayoría de los tejidos de reparación de heridas [VUENTO y cols., 1977; GRINNEL, 1984; HYNES, 1985], existiendo una gran homología entre la estructura polipeptídica de fibronectinas de diferentes especies.

La estructura de los polipéptidos de fibronectina presenta ligeras variaciones en función de su origen. Estas variaciones se reducen a pequeñas diferencias en el Pm de los polipéptidos, que resultan del ensamblaje alternativo de ciertos segmentos repetitivos. [SCHWARZBAUER y cols., 1985; VARTIO y cols., 1987; ZARDI y cols., 1987]. No se conoce el efecto biológico que puede derivarse de esta variabilidad pero es presumible que pueda afectar a las propiedades funcionales de la fibronectina.

El estudio funcional de fragmentos de fibronectina, obtenidos mediante proteólisis controlada, ha hecho posible el reconocer territorios funcionales en la fibronectina, así como delinear en cada uno de ellos diferentes lugares de unión: dos para la fibrina, dos para la heparina, uno para el estafilococo, uno para el colágeno, uno para la célula, dos para la unión cruzada a la transglutaminasa activada, uno para el DNA y varios para la autoasociación. [MOSHER y JOHNSON, 1983; PETERSEN y cols., 1983; ATHA y cols., 1984; HOMANDBERG y ERICKSON, 1986].

La fibrina, cuando se une a la fibronectina, actúa dirigiendo a ésta hacia el interior del coágulo sanguíneo. Esta incorporación de la fibronectina en el coágulo sanguíneo probablemente es importante en la curación de las heridas [GRINNEL, 1984], ya que la mayoría de los tipos celulares, a excepción de las plaquetas y las células endoteliales [KLEINMAN y cols., 1981; FITZGERALD y cols., 1987], se unen a la fibronectina pero no a la fibrina. La unión de fibronectina a fibrina es débil a la temperatura corporal, de manera que la unión cruzada transglutaminasa-activada a fibrina probablemente es necesaria para asegurar la permanencia de la fibronectina en el coágulo de fibrina, de modo que promocióne el anclaje y crecimiento celulares. [RICHTER y cols., 1985; COLLEN, 1987].

Se demostró que la fibronectina puede facilitar la organización del citoesqueleto de las células ancladas en el lugar de unión celular de la fibronectina [WOODS y cols., 1986] a través del medio heparán-sulfato de un PG de superficie celular; por lo tanto, la actividad ligadora de heparina puede tener cierta importancia fisiológica. De todos modos, existe un segundo lugar de unión a heparina que puede ser más importante para el anclaje celular.

La fibronectina no se une a los colágenos nativos en solución a temperatura ambiente, y a esta temperatura presenta una apetencia clara por la gelatina. Se ha demostrado que la fibronectina tiene afinidad por todos los tipos de colágeno analizados hasta ahora, siempre que sus estructuras helicoidales hayan sido modificadas por la desnaturalización. Sin embargo, la fibronectina sí se une al colágeno tipo I en solución a 37°C. Parece ser que a esta temperatura se produce un cierto grado de apertura o "bostezo" de la triple hélice del colágeno, que es suficiente para que se una la fibronectina. De este modo, parece existir la unión de fibronectina al colágeno *in vivo* y la fuerza, especificidad y selectividad de esta unión sugiere que es de una importancia fisiológica significativa. [ENGVALL y RUOSLAHTI, 1977; OWENS y BARALLE, 1986].

Todavía se desconoce el significado que pueda tener la capacidad de la fibronectina para ligar DNA.

El lugar de unión celular contiene la secuencia Arg-Gly-Asp (R.G.D.) que, tras ser reconocida conduce a la unión o anclaje de la célula. [RUOSLAHTI y PIERSCHBACHER, 1.986; HUMPHRIES y cols., 1.986, 1.987; HYNES y cols., 1987].

La fibronectina interactúa también con otros GAG y la intensidad de dicha interacción estará en función de su grado de sulfatación. Si bien los GAG pobremente sulfatados interactúan débilmente con la fibronectina, cuando forman parte de un PG la interacción es más fuerte. De tal modo, los grandes agregados de PG condroitín sulfato del cartilago y de los fibroblastos también se unen a la fibronectina. [OLDBERG y RUOSLAHTI, 1982].

Los PG de la superficie celular potencian la interacción célula-fibronectina cuando se unen a los lugares de unión a heparina [WOODS y cols., 1.986] y, del mismo modo, la heparina y un PG condroitín sulfato potencian la unión de la fibronectina al colágeno.

Al interactuar con la mayoría de los componentes de la matriz extracelular, los PG facilitan la formación de complejos macromoleculares de proteínas de dicha matriz y pueden también intervenir en la deposición matricial de fibronectina. Sin embargo, esto no es suficiente, puesto que se requiere la participación de las células para que se lleve a cabo la deposición de la matriz.

Mientras algunos autores [DESSAU y cols., 1978; STENMAN y VAHERI, 1978] afirmaban que en el cartilago no había fibronectina, otros muchos describieron, más recientemente, su existencia en el cartilago articular, e incluso proponen que un aumento en los niveles de detección normales de la misma puede ser un signo de enfermedad degenerativa articular [SHIOZAWA y cols., 1984; BURTON-WURSTER y cols., 1986; REES y cols., 1987; BROWN y JONES, 1990].

La presencia de fibronectina en el cartilago articular normal ha estado sujeta a múltiples controversias, presumiblemente, debido a que la presencia de proteoglicanos o ácido hialurónico impedía el acceso de los anticuerpos a la fibronectina del cartilago.

Cuando los investigadores comenzaron a tratar los cortes de cartilago con hialuronidasa, antes de intentar la localización inmunohistoquímica, encontraron fibronectina en el espesor del cartilago articular de ratas [WEISS y REDDI, 1981] y humanos [CLEMMENSEN y cols., 1982]. EVANS y cols. [1983] detectaron la presencia de fibronectina en el cartilago nasal de oveja sin llegar a utilizar un tratamiento previo de las muestras con hialuronidasa.

Sin embargo, SHIOWAZA y cols. [1984] solamente localizaron fibronectina en la superficie del corte del cartilago humano normal, incluso después de un tratamiento con hialuronidasa. Estos autores no encontraron fibronectina en el interior de la matriz del cartilago normal u osteoartrósico.

Este fracaso en la localización inmunohistoquímica de fibronectina en el cartilago osteoartrósico está en franca contradicción con los hallazgos bioquímicos sobre el contenido en fibronectina del cartilago articular degenerado procedente de perros con osteoartritis espontánea o displasia de cadera [WURSTER y LUST, 1982, 1984] y de personas sanas [BROWN y JONES, 1990] o con osteoartritis [MILLER y cols., 1984], en las que se encuentra en cantidades diez veces mayores [BROWN y JONES, 1990].

BURTON-WURSTER y cols. [1986] utilizaron dos métodos diferentes de tinción inmunohistoquímica en perros y conejos. A pesar de ello, el patrón de distribución fue similar: una capa de fibronectina en la superficie del cartilago articular tanto sano como enfermo y una tinción positiva para la fibronectina en la zona profunda. La matriz de la zona situada inmediatamente debajo de la superficie articular se teñía con menor intensidad. Estos hallazgos, en general, son concordantes con los descritos por CLEMMENSEN y cols. [1982] en el cartilago articular humano.

Respecto a la localización de la fibronectina en la matriz extracelular algunos autores, utilizando inmunofluorescencia, la describen como un halo pericelular que rodea a los condrocitos en un cartilago hialino normal [GLANT y cols., 1985], mientras que otros se encuentran con que la zona pericelular no se tiñe y en cambio lo hace la matriz interterritorial [EVANS y cols., 1983].

BURTON-WURSTER y cols. [1986] encontraron que en determinados cortes de cartilago degenerado, el estrato superficial de fibronectina era mayor que en el cartilago normal y los depósitos de fibronectina en la matriz también aparecían más densos y diseminados en aquél que en éste. Pero las diferencias detectadas inmunohistoquímicamente en el contenido de fibronectina entre el cartilago articular degenerado y normal apenas eran apreciables. Sorprendentemente, las diferencias fueron mayores cuando el contenido en fibronectina se detectó mediante inmunoelectroforesis.

La presencia de esta glucoproteína en la membrana y el líquido sinovial *in vivo* [SCOTT y cols., 1981a; CARNEMOLLA y cols., 1984] e *in vitro* [LAVIETES y cols., 1985] hacen pensar que sean ellos la posible fuente de fibronectina para el cartilago, especialmente de la fibronectina que se encuentra en el estrato superficial. Precisamente, la proliferación de las células del estrato sinovial es uno de los hallazgos en las articulaciones artrósicas de perros y conejos, lo que podría ser la causa del aumento de los niveles de fibronectina en el líquido sinovial [COLOMBO y cols., 1983; LUST y SUMMERS, 1981].

REES y cols. [1987] consideraron importante el estudio de la localización de la fibronectina en la matriz extracelular porque ello aportaría información sobre su origen y su papel en la misma. Admiten que una proporción de la fibronectina de la superficie articular puede proceder del líquido sinovial, al ser éste rico en dicha proteína [SCOTT y cols., 1982]. Sin embargo, no es conocida la proporción en que contribuye a ello. Se encontraron con que la penetración de la fibronectina en la superficie de un cartilago articular normal era mínima. Esto concuerda con los resultados obtenidos por otros autores [MAROUDAS, 1970; WURSTER y LUST, 1986; JONES y cols., 1987; REES y cols., 1987].

Sin embargo, WURSTER y LUST [1986], con la utilización de técnicas diferentes, fueron capaces de localizar esta glucoproteína en el cartilago articular, tanto intra como extracelularmente. Esta ubicación era más pronunciada en la zona superficial de especímenes con osteoartrosis, aunque también fue encontrada alrededor y dentro de unas pocas células pertenecientes a un cartilago articular sano.

La penetración de fibronectina a escasas profundidades en el cartilago artrósico del perro probablemente sea el resultado de una ruptura de la red de colágeno superficial [WURSTER y LUST, 1986]. Se ignoran las consecuencias de esta acumulación, aunque hay alguna evidencia de que la conducta del condrocito podría verse alterada por este hecho [WEST y cols., 1979; GIBSON y cols., 1983]. En este sentido, se ha

asociado un aumento en la cantidad de fibronectina con un cambio en el fenotipo del condrocito [PENNYPACKER y cols., 1979], haciendo que éste adquiriera características morfológicas que lo asemejan a un fibroblasto y detenga la síntesis de macromoléculas específicas del cartilago [HEWITT y cols., 1980, 1982; PENNYPACKER, 1979; WEST y cols., 1979]. Estos efectos también pueden ser provocados por la adición de ácido butírico al medio de cultivo de los condrocitos y, aunque la fibronectina está aumentada, no es la responsable de los cambios mencionados. En este caso, el mecanismo por el cual se alteran la morfología y la capacidad sintética del condrocito obedece a una alteración en la síntesis de un proteoglucano condroitín sulfato específico del cartilago (CSPG: *Cartilage specific proteoglycan*) [BRETTON y PENNYPACKER, 1989].

Las cuestiones sobre cómo se estimula la producción de fibronectina y cuál es su función o qué consecuencias tiene sobre la matriz son todavía temas de investigación en la actualidad.

Condronectina

La condronectina es una glucoproteína de la matriz extracelular que fue descrita por HEWITT y cols., [1980, 1982] en el suero y en el cartilago esternal del pollo. Desde entonces se ha comunicado su presencia en el suero y en el cartilago fetal humano [HORN y cols., 1986], en el cartilago humano adulto y en el vítreo [CARSONS y HORN, 1988].

Se trata de una proteína con un peso molecular de 180.000 daltons compuesta de subunidades de 75-77 kDa unidas por enlaces disulfuro [HEWITT y cols., 1980]. Al igual que la fibronectina, la condronectina circula en la sangre, aunque su concentración es, aproximadamente, una décima parte de la de aquélla [CARSONS y HORN, 1988]. La condronectina aislada del suero es inmunológica y químicamente diferente de la fibronectina [HEWITT y cols., 1982].

Con la utilización de anticuerpos se ha detectado su existencia en el cartilago articular normal y artrósico de perro [BURTON-WURSTER y cols., 1988]. Las microfotografías mostraron una tinción para la condronectina en el citoplasma del condrocito, lo cual sugeriría que alguna cantidad pudiera ser sintetizada localmente.

Los patrones de tinción para la fibronectina y la condronectina resultaron diferentes. La tinción para la condronectina fue más intensa en la región pericelular,

mientras que la tinción para la fibronectina se perdía en esta región con el tratamiento previo con hialuronidasa; lo cual sugiere que las interacciones de estas dos moléculas con los condrocitos y con otras macromoléculas de la matriz son diferentes [BURTON-WURSTER y cols., 1988].

Esta glucoproteína media específicamente la unión de los condrocitos al colágeno tipo II, si bien, probablemente necesite de la actuación concomitante de otros factores para llevar a cabo esta función. [HEWITT y cols., 1982; VARNER y cols., 1986].

Tenascina

La tenascina es una glucoproteína que se encuentra en la matriz extracelular durante la maduración de los tejidos óseo y cartilaginosa, atribuyéndosele un papel osteogénico y condrogénico [MACKIE y cols., 1987]. Mientras estos autores fueron incapaces de localizarla en los tejidos diferenciados, VAUGHAN y cols. [1987] lo consiguieron, sugiriendo que podría considerarse como un componente estructural de la matriz.

La tenascina es una glucoproteína de la matriz extracelular de gran tamaño, con una estructura hexamérica en cada molécula [ERICKSON y BOURDON, 1989; CHIQUET-EHRISMANN, 1990]. Se expresa transitoriamente durante el desarrollo embrionario pero está ausente de la mayor parte de los tejidos adultos. Sin embargo, su producción se encuentra aumentada durante los procesos de reparación tisular [KOUKOULIS y cols., 1991] y en el estroma de las neoplasias [ERICKSON y BOURDON, 1989; KOUKOULIS y cols., 1991]. En los tejidos osteoarticulares la tenascina está presente en el cartilago diferenciado de pollos y roedores, y su expresión en tejidos maduros está predominantemente confinada al pericondrio [MACKIE y cols., 1987]. La inmunoreactividad para la tenascina puede verse en los tumores condrogénicos humanos [KOUKOULIS y cols., 1991], pero se sabe poco de su expresión en el cartilago articular normal o de los cambios de su síntesis local en los procesos degenerativos o regenerativos.

SALTER [1993] demuestra que la tenascina está presente en la zona superficial del cartilago articular humano y que su expresión se encuentra marcadamente incrementada en la enfermedad articular. También se localizan pequeñas cantidades de esta glucoproteína en la sinovial, asociada predominantemente con los vasos sanguíneos, aunque en casos de artritis inflamatoria o degenerativa su presencia

aumenta y se localiza tanto en los estratos celulares de la sinovial como en el tejido conectivo subyacente.

Esta glucoproteína parece estar involucrada en la curación de heridas en la mayor parte de los tejidos [KOUKOULIS y cols., 1991]. El aumento en la producción de tenascina por los sinoviocitos tipo B ("*fibroblast-like*") y los fibroblastos subintimales, resultado de la activación de citoquinas como el TGF- β , podría ser el reflejo de importantes papeles en las respuestas inmunes [RUEGG y cols., 1989] y la reparación tisular [SALTER, 1993].

La tenascina es un componente que no se encuentra en otros cartílagos hialinos [MACKIE y cols., 1987]. El que se encuentre en el cartílago articular puede estar relacionado con las funciones de soporte de cargas mecánicas que ha de realizar este tejido. Por otro lado, el confinamiento de la tenascina al estrato superficial del cartílago sería un reflejo de la heterogeneidad fenotípica de los condrocitos articulares [ARCHER y cols., 1990].

La acumulación de tenascina en el cartílago con osteoartritis o artritis reumatoide podría ser la consecuencia de un transporte pasivo desde el líquido sinovial o, secundariamente, de un aumento en la producción local de los condrocitos. La gradación de la inmunorreactividad, extensa y fuerte en las zonas superficiales y débil en las zonas profundas, sugiere que, efectivamente, se da una absorción pasiva desde el líquido sinovial. No obstante, la inmunorreactividad focal intracelular y la localización pericelular con matriz circundante negativa en los estratos profundos del cartílago articular, similar a la inmunolocalización de la fibronectina [JONES y cols., 1987], indican que la producción de tenascina por los condrocitos del cartílago también contribuye al aumento de los niveles locales. SALTER [1993] en estudios *in vitro*, demuestra que los condrocitos articulares sintetizan tenascina.

Las distribuciones pericelular e interterritorial de la inmunorreactividad en el cartílago articular sano y enfermo sugieren que la tenascina podría tener efectos sobre la función celular y las interacciones con la matriz extracelular. *In vitro* la tenascina promueve la condrogénesis [MACKIE y cols., 1987] e impide que la fibronectina actúe sobre los condrocitos produciendo una disminución de la síntesis de proteínas específicas de la matriz [WEST y cols., 1979]. La tenascina podría tener propiedades similares *in vivo*, contrarrestando las propiedades adversas del aumento en los niveles de fibronectina o el metabolismo de los condrocitos en el cartílago osteoartrosico. [JONES y cols., 1987; BROWN y JONES, 1990]. Su unión a las proteínas y PG

extracelulares [CHIQUET y FAMBROUGH, 1984] tendría efectos sobre la organización, estructura e integridad de la matriz cartilaginosa, todos ellos importantes en la progresión de la enfermedad cartilaginosa.

II.2.1.3.- Componente celular

La capa de cartilago que cubre las superficies óseas de las articulaciones sinoviales está constituida por un número relativamente escaso de células inmersas en una sustancia intercelular predominante. El grosor del cartilago articular, la celularidad, sus características estructurales, bioquímicas y físicas varían entre individuos y entre articulaciones de un mismo individuo. Son también diferentes en una misma articulación en función de la carga mecánica que soporta el cartilago y, en general, dependen del momento del desarrollo o edad del individuo [STOCKWELL, 1971; SCHENK y cols., 1986; PAUKKONEN y HELMINEN, 1987b; GILMORE y PALFREY, 1988].

Ante una variabilidad tan grande y para facilitar su descripción, en principio tomaremos como punto de partida el cartilago articular adulto, cuyas características son relativamente estables.

Las descripciones del cartilago articular se realizan, habitualmente, sobre cortes histológicos perpendiculares a la superficie articular, ya que este es el modo en que su particular estructura es más aparente.

El grosor del cartilago articular es mayor en aquellas regiones en las que el tejido soporta una mayor carga [HOLMDAHL e INGELMARK, 1948; VIGNON y cols., 1976; EGGLI y cols., 1988]. Con respecto a la edad, el cartilago articular de los animales en crecimiento disminuye a medida que estos se hacen mayores [CASTAÑO, 1992; CASTAÑO y cols., 1994], pasando de ser un cartilago articular-epifisario que participa en el crecimiento en longitud del hueso, a ser un cartilago exclusivamente articular.

Como ya hemos apuntado, en lo que se refiere al componente celular se distinguen en el cartilago articular cuatro zonas distintas. Una *zona superficial (I)*, próxima a la superficie articular, constituida por células discoides cuyo diámetro mayor es paralelo a dicha superficie. Subyacente a la superficial, se distingue la *zona de transición o intermedia (II)* que se caracteriza por la redondez de los condrocitos que la componen. La zona más profunda y más gruesa del cartilago no mineralizado se

denomina *zona radial (III)* por la típica disposición de los condrocitos formando columnas; está separada por el *tidemark* o *línea de marea* de la *zona de cartilago mineralizado (IV)* que, a su vez, descansa sobre el hueso subcondral.

El alto grado de organización celular del cartilago articular se acompaña de un grado igualmente alto de organización estructural de la matriz.

La celularidad (densidad numérica celular), el volumen matricial por célula (densidad matricial) y las características estructurales del condrocito (tamaño, forma y contenido de organelas) varían según las zonas antes descritas y con la localización topográfico-funcional del cartilago dentro de una misma articulación.

Entre los autores que han tratado este tema sobresale, a nuestro parecer, el trabajo realizado por EGGLI y cols. en 1988. En su estudio del cartilago articular del cóndilo medial del fémur de conejo, han calculado que al volumen tisular total del cartilago (39 mm^3) le corresponde un promedio de densidad numérica celular de 126.000. Ello significa que dicho cartilago articular contiene aproximadamente $4,9 \times 10^6$ condrocitos que ocupan el 11,6% del volumen tisular. Hechos los cálculos oportunos, comprobaron que existían $35.600 \text{ células/mm}^2$, o lo que es lo mismo $35,6 \text{ células/1.000 } \mu\text{m}^2$.

El estudio zonal demuestra que la densidad de volumen y la densidad numérica celulares son mayores en la zona I y que decrecen en función de la proximidad al *tidemark* según un factor aproximadamente igual a 2. No es así en lo que respecta al promedio de volumen celular, ya que los condrocitos superficiales resultan tener un volumen semejante al de las células de las zona II y IV, aunque a simple vista parezcan más pequeños los primeros.

La densidad numérica celular se hace menor desde las zonas superficiales hacia el *tidemark* de manera proporcional al incremento de la densidad matricial, de modo que aumenta el promedio de volumen matricial por célula. Este resultado podría interpretarse como un aumento del volumen matricial regulado por cada condrocito y, en consecuencia, cabría esperar una variación proporcional del contenido en organelas por célula que, como veremos más tarde, en realidad no se produce.

Las características ultraestructurales del condrocito también presentan diferencias zonales [SCHENK y cols., 1986]. Los condrocitos de la zona I, alargados y aplanados, poseen una membrana celular lisa y regular en su cara superior, mientras

que en la cara basal presentan numerosos procesos citoplasmáticos que se disponen paralelamente al eje de la célula. En el citoplasma existe una buena cantidad de mitocondrias y el RER y aparato de Golgi están bien desarrollados. Se pueden encontrar de forma regular ligeras cantidades de filamentos intermedios con una disposición perinuclear. En la cara superficial del condrocito se observan numerosas vesículas pinocitóticas.

Las células de la zona II, de forma más esférica, tienen un contenido citoplasmático muy similar, excepto que los filamentos intermedios perinucleares son más evidentes. La distribución de las vesículas pinocitóticas y de procesos citoplasmáticos es más uniforme.

El cambio en los condrocitos es muy acusado en las proximidades de la zona III. Esta zona se caracteriza por la disposición de sus células en columnas, que presentan diferencias en su contenido citoplasmático si se comparan las más superficiales con las situadas más próximas al *tidemark*. En los condrocitos más superficiales de la zona III (IIIa), la mayor parte del citoplasma está ocupado por filamentos intermedios y granos de glucógeno mientras que el resto de las organelas (poco desarrolladas) se localizan perinuclearmente.

En las células de la zona III próximas al *tidemark* (IIIb) los filamentos intermedios y el glucógeno son poco prominentes, mientras que vuelven a predominar las mitocondrias, el RER y el aparato de Golgi.

Los condrocitos de la mitad superior de la zona calcificada son mucho más grandes que las células de las zonas suprayacentes. Las células abandonan su disposición en columnas y se organizan en pequeños grupos. El citosol es más pálido que en las células de los tres estratos precedentes y las organelas son aparentemente más prominentes. Los condrocitos de esta zona contienen importantes cantidades de RER, aparato de Golgi, huecos, mitocondrias, cuerpos lipídicos, cuerpos electrodensos (presumiblemente lisosomas) y glucógeno. En cambio, carecen de filamentos finos, vacuolas de pared lisa o vesículas. [BRIGHTON y cols., 1984]. En la mitad inferior de la zona calcificada, los condrocitos son de menor tamaño que en la superior, tienen una distribución más desordenada, al azar, y ya no suelen formar pequeños grupos. El citosol es mucho más pálido y el hecho más prominente de estas células es el gran número de huecos que presentan. También contienen RER, aparato de Golgi, mitocondrias, cuerpos lipídicos y electrodensos. No presentan vacuolas de pared lisa o vesículas. A diferencia de las células superiores, carecen de glucógeno. La membrana

celular aparece fragmentada en algunas células, especialmente en aquellas que se encuentran más cerca del hueso subcondral subyacente. Estas células dan la impresión de estar sufriendo una degeneración. [BRIGHTON y cols., 1984].

Los valores absoluto y relativo del volumen que ocupan las organelas celulares en los condrocitos de la porción superior de la zona calcificada son equivalentes a los de otras zonas del cartilago, lo que sugiere que esta región es activa metabólicamente. Cuando las células adquieren su tamaño máximo, el porcentaje del área ocupada por cada uno de los componentes intracitoplasmáticos o sus concentraciones relativas no aumentan proporcionalmente. El aumento abrupto en el tamaño celular debe ser causado por una tumefacción celular, lo que explica que las áreas ocupadas por los diferentes componentes citoplasmáticos no puedan aumentar. Las células de la zona calcificada también se caracterizan por un incremento importante en el área ocupada por huecos, otro signo de tumefacción celular. La degeneración celular en la que se da una repentina imbibición de importantes cantidades de agua se denomina "degeneración hidrofílica". Este aumento en la entrada de agua a la célula es, aparentemente, el resultado de cambios en las presiones osmóticas que regulan el fluido de líquidos en la célula. Todos estos datos representan una paradoja: la zona calcificada muestra un estado de actividad metabólica al mismo tiempo que exhibe signos de degeneración celular [SCHENK y cols., 1986].

En los individuos jóvenes únicamente las células más superficiales se corresponden con las características de la zona I del cartilago adulto. El cartilago articular no mineralizado restante difiere de las características antes descritas, puesto que en los individuos inmaduros la mayoría de las células están proliferando constantemente y tienen una alta actividad sintética de matriz. Dichas células presentan una gran riqueza en RER y aparato de Golgi, carecen de filamentos intermedios, tienen unas características parecidas a los condrocitos del cartilago de crecimiento y probablemente participan en la calcificación del cartilago [SCHENK y cols., 1986].

Como la mayor parte del cartilago inmaduro va a ser reemplazado por hueso, aproximadamente sólo el tercio más superficial va a constituir el cartilago articular definitivo [SCHENK y cols., 1986]. Las características de la zona III sólo se hacen aparentes en la madurez del individuo, de modo que podría considerarse que su diferenciación es una adaptación a las demandas mecánicas específicas del cartilago articular.

El condrocito tiene características estructurales especiales tales como: la presencia de gran número de caveolas, aproximadamente 17.700 por condrocito, que si bien se les adjudica un papel endocitótico o exocitótico, se ha discutido su posible pertenencia a un mecanismo de "acoplamiento" excitación-contracción por su similitud con las observadas en las células musculares lisas y su afinidad por el calcio [WILSMAN y cols., 1981].

Otra característica especial del condrocito es la posesión de filamentos intracitoplasmáticos. En su mayoría se trata de filamentos intermedios (10 nm) que han sido identificados como vimentina [LINSS y cols., 1986], tubulina, actina y un extenso sistema microtubular en condrocitos cultivados [DOMINICE y cols., 1986]. Se ha sugerido que el aumento de filamentos intermedios es un índice de envejecimiento celular o degeneración citoplasmática [GHADIALLY, 1983; DOMINICE y cols., 1986] pero, como parte integrante del citoesqueleto, es obvio que tienen un papel estructural y su aumento se produce, como después veremos, en respuesta a las condiciones mecánicas del entorno. Por otra parte, en los animales adultos, el mayor compromiso nutricional corresponde a las células más profundas que, sin embargo, y en contra de la posible vinculación con el envejecimiento, presentan menos filamentos intermedios [SCHENK y cols., 1986].

Prácticamente, todos los condrocitos articulares poseen un cilio primario [WILSMAN, 1978] cuya función, aunque no es del todo conocida, ha suscitado numerosas hipótesis. La motilidad se considera poco probable puesto que, aparentemente, no existe dineína en los dobletes ciliares. Sin embargo, se ha especulado sobre la posibilidad de que tenga una función sensorial, de manera que la deformación producida por el funcionamiento articular genere respuestas que pudieran estar relacionadas con la regulación de la composición y mantenimiento de la matriz [POOLE y cols., 1985].

II.2.2.- Interacción célula-matriz, matriz-célula en la organización de los tejidos

Las moléculas de colágeno, proteoglicanos, glucoproteínas y glucosaminoglicanos, además de estar presentes en la matriz extracelular, pueden estar asociadas a las superficies celulares. Con el avance de la biología molecular, definir dónde terminan los componentes asociados a la membrana plasmática y dónde empieza la matriz extracelular se está convirtiendo en una cuestión semántica. [BORNSTEIN y cols., 1978; BERMAN y cols., 1987].

Cuando se utilizan anticuerpos fluorescentes para visualizar la fibronectina sobre la superficie de fibroblastos cultivados, se observa que está distribuida siguiendo unas ordenaciones fibrilares notables, que se hallan concentradas entre las células adyacentes y entre las células y el substrato. Si estas células se tratan con citocalasina, que deshace los haces internos de filamentos de actina, los filamentos de fibronectina se disocian de la superficie celular (tal como ocurre durante la mitosis cuando la célula se redondea). Parece, pues, que existe alguna conexión entre la fibronectina extracelular y los filamentos de actina intracelulares. [HYNES, 1981]. Por ello, no resulta sorprendente que la orientación de las hebras de fibronectina segregadas por una célula coincida con la orientación de los haces de filamentos de actina del interior de la misma, quedando los dos conjuntos de fibras orientados a lo largo del eje longitudinal de la célula. Se han realizado observaciones similares respecto a cómo se distribuyen las moléculas de colágeno recién sintetizadas sobre la superficie de los fibroblastos en cultivo, los cuáles pueden estar unidos a través de interacciones con fibronectina. Por consiguiente, está claro que el elevado grado de orden que existe dentro de las células puede transmitirse a la matriz extracelular a través de la orientación de las macromoléculas que segregan las células [BORNSTEIN y cols., 1978; HYNES, 1981].

De manera recíproca, una matriz extracelular ordenada influye sobre la organización y el comportamiento de las células que contiene [MAJACK y BORNSTEIN, 1984, 1985a-b; NEWMAN y cols., 1985]. Las macromoléculas de la matriz extracelular ejercen unos efectos sorprendentes sobre el comportamiento de las células en cultivo, influyendo sobre su forma, su movimiento, su metabolismo y su diferenciación.

Por ejemplo, las células epiteliales de la córnea producen muy poco colágeno o proteoglucano cuando se cultivan sobre superficies sintéticas; en cambio, al ser cultivados sobre una lámina basal, sobre colágeno o sobre proteoglucanos, acumulan y segregan grandes cantidades de estas macromoléculas de la matriz. Además, las superficies basales de las células epiteliales, cultivadas sobre superficies sintéticas, son irregulares y los citoesqueletos celulares están desorganizados. Cuando las mismas células se cultivan sobre una lámina basal o sobre macromoléculas de la matriz, las superficies basales son lisas y los citoesqueletos están altamente organizados, igual que en el tejido intacto. [BORNSTEIN y cols., 1978; HYNES, 1981]. Estas observaciones indican que la fibronectina extracelular se comunica con los filamentos intracelulares de actina en ambas direcciones a través de la membrana plasmática de los fibroblastos [HYNES, 1981, 1985].

Como fruto del estudio tan exhaustivo que ha sufrido la fibronectina, sabemos que la célula se une a ella en el lugar R.G.D., mientras que la interacción entre los PG y el lugar de unión a heparina potencia dicha unión. Ésta se basa en el reconocimiento por parte de la célula de los lugares R.G.D. de la fibronectina mediante receptores directos de R.G.D. existentes en la superficie celular

[RUOSLAHTI y PIERSCHBACHER, 1986]. Estos receptores de superficie pertenecen a la superfamilia de proteínas denominadas *integrinas* [BUCK y HORWITZ, 1987a-b; HYNES 1987; RUOSLAHTI y PIERSCHBACHER, 1987]. Existen distintos receptores R.G.D. para la fibronectina; las razones exactas de tal diversidad no se conocen, pero podría estar motivada porque la fibronectina puede ser utilizada por células distintas y en cometidos diferentes.

Basándose en la secuencia de aminoácidos [PYTELA y cols., 1985; BUCK y HORWITZ, 1987b] se han descrito en las subunidades de cada integrina un *territorio extracelular*, un *segmento transmembrana* y un *territorio citoplasmático corto* [ARGRAVES y cols., 1986, 1987; TAMKUN y cols., 1986].

El *territorio transmembrana* podría actuar como transmisor de señales a través de la membrana celular [SUZUKI y cols., 1987]. Se ha demostrado que el complejo integrina tiene afinidad por una proteína citoesquelética, la *talina*, que se asocia con la red de filamentos de actina [HORWITZ y cols., 1986]. De este modo, los receptores de adhesión son un eslabón entre la matriz extracelular y el citoesqueleto [HYNES y cols., 1987].

La interacción de los PG de superficie con la fibronectina facilita la organización de la actina en fibras de estrés y la formación de placas de adhesión [WOODS y cols., 1986]. Del mismo modo, los PG de superficie celular pueden también intervenir en la deposición de fibronectina en la matriz extracelular. No hay que olvidar que, ya que los PG condroitín sulfato y dermatán sulfato pueden inhibir el anclaje de las células a la fibronectina y al colágeno, los PG pueden regular también la adhesión celular.

Puesto que los citoesqueletos de las células ordenan las macromoléculas de la matriz que segregan, y ya que las macromoléculas de la matriz, a su vez, organizan los citoesqueletos de las células que están en contacto con ellas, la matriz extracelular, en principio, propaga el orden de célula a célula. De esta manera, la matriz podría desempeñar un papel central en la generación y en el mantenimiento de los patrones de las células de los tejidos y órganos durante el desarrollo. Las macromoléculas de la matriz asociadas con la superficie celular actuarían en este proceso de ordenación, tanto de "enlaces" como de "adaptadores", mediando las interacciones entre las células y la matriz que las rodea. [BURRIDGE y cols., 1988].

II.2.3.- Metabolismo del cartílago articular

La utilidad del cartilago para el organismo deriva de las propiedades mecánicas de su matriz extracelular. Su producción y mantenimiento dependen de sus propias células, los condrocitos, que, como ya hemos visto, suponen una pequeña proporción del volumen tisular (1-10%). De los diferentes estudios sobre la función del

condrocito [SERAFINI-FRACASINI y SMITH, 1974; LBOVITZ y EISENBARTH, 1975; BARRETT, 1975; MUIR, 1979; STOCKWELL, 1979; MAROUDAS, 1980a] se deduce que, en comparación con otros tejidos vascularizados, el cartilago tiene una actividad metabólica escasa.

La célula cartilaginosa proporciona al organismo un material adecuado para absorber y soportar carga y que, metabólicamente, es muy económico. Resulta interesante conocer la vida de estas células en un ambiente avascular y la forma de síntesis y degradación de las macromoléculas matriciales. Por ello, la peculiaridad del condrocito descansa en su capacidad para formar y regular un tejido perfectamente organizado en lugares alejados de los vasos sanguíneos, linfáticos y de los nervios.

El perfil metabólico de los condrocitos en el cartilago articular es predominantemente anaeróbico y, aún cuando existan ligeras diferencias entre las distintas zonas del mismo, necesita una pequeña cantidad de oxígeno para el crecimiento y la síntesis normales [STOCKWELL, 1979].

Los condrocitos adultos tienen una actividad glucolítica similar a la de las células de otros tejidos [BYWATERS, 1937], en cambio, el consumo de oxígeno es mucho menor, en algunos casos inferior al 2%, del que correspondería a un tejido vascularizado. Teniendo en cuenta el peso tisular, el bajo nivel metabólico del cartilago se debe, en primera instancia, a su baja celularidad. Estos parámetros se ven muy afectados por procesos como el crecimiento y la maduración, pues los cartilagos embrionarios y epifisarios son mucho más activos que los adultos. Si bien pudiera deberse en parte a las diferencias de celularidad, también es cierto que las células inmaduras presentan mayor actividad que las adultas. Los niveles de consumo de oxígeno y de glucolisis disminuyen durante la maduración, sin embargo, aunque en la vida adulta, cuando todo crecimiento ha cesado, se produce una disminución de la utilización celular del oxígeno sin que varíe la actividad glucolítica [ROSENTHAL y cols., 1941], los efectos de la edad avanzada sobre el metabolismo del cartilago no son bien conocidos.

La baja utilización de oxígeno del cartilago articular es compatible con su naturaleza avascular. En todos los tejidos hay un gradiente de difusión entre la sangre capilar y las células, pero en el cartilago, las distancias son mayores y los gradientes más profundos. En consecuencia, es comprensible que la tensión de oxígeno sea muy baja en el cartilago [SILVER, 1975]. En cualquier caso, las tensiones de oxígeno exceden el nivel por debajo del cual resultaría dañada la respiración mitocondrial

[LONGMUIR, 1957].

Las bajas tensiones de oxígeno no afectan seriamente al condrocito, pero inhiben la incorporación de sulfato y la síntesis de DNA [MARCUS, 1973; BRIGHTON y cols., 1974; LANE y cols., 1977], mientras aumentan la proporción de queratán sulfato en detrimento del condroitín sulfato [SCOTT y cols., 1989].

Las tensiones de oxígeno elevadas afectan adversamente al condrocito: se reduce la síntesis de PG y DNA [BRIGHTON y cols., 1974; LEMPERG y cols., 1975; LANE y cols., 1977], aumenta la cantidad de condroitín sulfato en detrimento del queratán sulfato [SCOTT y cols., 1989] y puede aumentar la degradación de la matriz [SLEDGE y DINGLE, 1965]. A pesar de ello, las células podrían adaptarse a estos niveles altos de oxígeno aumentando su consumo [LANE y cols., 1977].

Todo lo antedicho y los estudios de la distribución de los enzimas del ciclo de KREBS en las diferentes células [STOCKWELL, 1983] sugieren la existencia de dos poblaciones celulares distintas (aeróbicas y anaeróbicas). La disposición de los dos tipos funcionales de células parece estar relacionada con la vía de aporte nutricional, que en los individuos jóvenes proviene en gran parte del compartimento subcondral [McKIBBIN y HOLDSWORTH, 1966, 1967], mientras que en los individuos adultos, son las células superficiales las que tienen más fácil acceso al oxígeno.

En los individuos jóvenes, en los que el cartílago es articular-epifisario, existe una fuerte actividad glucolítica en todas las zonas del cartílago [SAMPSON y CANNON, 1986]. A pesar de ello, la positividad para los enzimas del ciclo de KREBS aumenta con la profundidad, oscilando desde la positividad moderada de la zona tangencial, con diferencias individuales entre células, hasta una franca positividad en la zona de cartílago epifisario. Del mismo modo, la actividad glucosa-6-fosfato deshidrogenasa es moderada en las zonas tangencial y de transición, se incrementa levemente en la zona radial y es fuerte en la zona de calcificación. La actividad de la cadena respiratoria es también creciente desde una reacción citocromo-oxidasa mínima en la zona tangencial, hasta una reacción moderada en la zona epifisaria.

El metabolismo lipídico es moderadamente activo en todas las zonas del cartílago articular-epifisario y la presencia de grasas neutras es de un nivel moderado en cada una de las zonas [SAMPSON y CANNON, 1986; LABANDEIRA-GARCÍA y cols., 1990].

La energía obtenida mediante el ciclo de KREBS probablemente es utilizada para la síntesis y mantenimiento de la matriz extracelular antes y durante la preparación para la mineralización. Esto coincide con el hecho de que los bajos niveles de oxígeno conducen a la diferenciación cartilaginosa [HALL, 1970], o al contrario, que ambientes con alto nivel de oxígeno conducen a la formación de hueso [BASSET y HERMANN, 1961].

Es evidente que las condiciones de aerobiosis en el cartilago articular-epifisario inmaduro aumentan con la profundidad, como lo demuestran la fuerte positividad para enzimas del ciclo de KREBS, para la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y para la citocromo-oxidasa.

En el cartilago articular maduro, la mayor parte de la utilización de la glucosa se realiza mediante anaerobiosis [LANE y cols., 1977]. Los nutrientes, oxígeno, glucosa y los aminoácidos necesarios para la síntesis de los componentes matriciales, en su mayoría difunden desde y a través de los plexos vasculares sinoviales, se incorporan al líquido sinovial y, atravesando la barrera matricial, llegan a las células [MAROUDAS, 1970, 1976b].

II.2.3.1.- Biosíntesis de macromoléculas

Los condrocitos utilizan dos vías básicas para la síntesis de los diferentes elementos de la matriz extracelular:

1. El sistema genético estándar en el cual el mensaje incluido en el DNA se transcribe al RNA mensajero que lo transporta al citoplasma para la síntesis de proteína.
2. Un sistema específico por el cual se unen los azúcares, utilizando intermediarios uridín-difosfato para la construcción de los distintos glucosaminoglucanos [BAKER y cols., 1972; SCHWARTZ y RODÉN, 1975]. Dicha glucosilación así como el proceso de sulfatación parecen ocurrir en el aparato de Golgi [YOUNG, 1973].

El condrocito, como veremos a continuación, tiene capacidad para sintetizar y liberar los componentes de las macromoléculas matriciales que lo rodean y que proporcionan a la matriz sus características. Pero, por otro lado, también sintetiza y

puede liberar cantidades variables de una serie de enzimas y factores humorales que tienen importancia vital en la regulación de su propio metabolismo: IGF-1 [MORALES y HASCALL, 1989], TGF- β [ELLINGSWORTH y cols., 1986; IGNOTZ y MASSAGUE, 1986, 1987], catepsinas D, B, H, L, y metaloproteinasas [ROUGHLEY y MORT, 1986; MORT y cols., 1987] e IL-1 [OLLIVIERRE y cols., 1986].

El proceso de **síntesis del colágeno** no varía sensiblemente respecto al de otras variedades de tejido conjuntivo, pero sí son diferentes los tipos de colágenos sintetizados [BROWN y BALIAN, 1987]. Para un estudio de este tema, nos remitimos a las páginas donde se describieron como componentes matriciales del cartilago articular.

Respecto a la **síntesis de las glucoproteínas de adhesión**, nos remitimos al mismo apartado que en el párrafo anterior, sin perjuicio de reseñar aquí que el condrocito pudiera sintetizar fibronectina [WURSTER y LUST, 1986], condronectina [BURTON-WURSTER y cols., 1988] y tenascina [SALTER, 1993].

La **síntesis de los proteoglucanos** conlleva la coordinación de la síntesis proteica con la actividad glucosiltransferasa que inicia y mantiene la formación de las cadenas de oligosacáridos y glucosaminoglucanos sobre la proteína central. Ya que los GAG representan el 90% de la masa de un PG tipo, su formación es el principal acontecimiento de la biosíntesis de PG [HASCALL y cols., 1983].

La **proteína central** permanece en la célula durante 60-90 minutos sin que haya comenzado la adición de la mayoría de los GAG, pero la síntesis de GAG es tan rápida que el PG completo es secretado inmediatamente [MITCHELL y HARDINGHAM, 1981].

La **síntesis y secreción de la proteína de unión y de la proteína central** son independientes, pero están íntimamente unidas [RATCLIFFE y cols., 1985], ya que comparten el mismo proceso de biosíntesis, pudiendo interactuar antes de la secreción.

Se cree que la **síntesis del ácido hialurónico** se realiza en la superficie interna de la membrana plasmática [PREHM, 1984], para ser luego secretado al exterior de la superficie celular.

El hecho de que los lugares y los mecanismos de síntesis de los PG y de AH sean diferentes, impide que éstos interactúen antes de abandonar la célula [CARNEY

y MUIR, 1988].

La formación de agregados de PG se realiza en el exterior de la célula, una vez han sido secretados los PG, las proteínas de unión [FARQUHAR, 1985] y el AH.

La unión de PG al AH se produce tras la maduración de los monómeros de PG, observándose que la tasa de maduración es directamente proporcional a la temperatura y está relacionada con la formación de uniones disulfuro en el HADR [BAYLISS y cols., 1983a y 1984].

II.2.3.2.- Degradación de macromoléculas

La degradación de la matriz extracelular es un proceso básico para el crecimiento, desarrollo, morfogénesis, remodelado y reparación de los tejidos, tanto en condiciones fisiológicas como en condiciones patológicas. En ella intervienen mecanismos cuya variación está en relación con: a) los diferentes tipos de tejido, b) las condiciones en que se llevarán a cabo y c) la variabilidad en las estructuras primarias de los diversos tipos de colágenos genéticamente distintos, glucoproteínas y proteoglicanos, que requieren para su degradación enzimas específicos. A esto hay que añadir la circunstancia de que cada tipo de célula realiza combinaciones de proteinasas, inhibidores de las mismas y activadores de proenzimas determinados. [BARRET y STARKEY, 1973 ; YAMADA y cols., 1987]

El cartílago articular, al igual que los demás componentes de la articulación, está sujeto a cambios funcionales y metabólicos en los que, independientemente de sus connotaciones fisiológicas o patológicas, es preciso un continuo balance en la formación y destrucción de su estructura. Aún cuando comparte procesos y mecanismos con otros tejidos conjuntivos, posee características particulares dignas de ser observadas especialmente y que son consecuencia de las condiciones estructurales y de avascularidad y "aneuralidad" propias de este tejido que, por otro lado, son únicas en el organismo.

La degradación del cartílago articular puede deberse a dos mecanismos principales: un mecanismo de resorción intrínseca, en el que la lisis de la matriz se consigue por la acción de enzimas producidos por el propio condrocito, y un mecanismo de resorción extrínseca, en el que intervienen enzimas producidos por células no cartilaginosas [MOHR, 1986]. Si bien es cierto, la total individualización de ambos mecanismos es puramente teórica ya que siempre se puede producir la combinación de

ambos en un mayor o menor grado.

En condiciones de normalidad, el mantenimiento o renovación de la matriz del cartilago se produce mediante un intercambio lento de los componentes matriciales preexistentes por moléculas recién sintetizadas. Esto supone una lenta degradación matricial que se localiza, al menos, en dos territorios diferentes. Uno a nivel pericelular, donde intervienen, fundamentalmente, enzimas que el propio condrocito sintetiza y secreta. Otro en compartimentos matriciales más distantes (MIT), que es controlado mediante la activación relativa de enzimas. Los productos resultantes de la degradación extracelular (componentes de la matriz parcialmente degradados: bien sean moléculas, aminoácidos u oligopéptidos), entran en la célula y es entonces cuando tiene lugar el último paso de la degradación, en el interior de los lisosomas [MALEMUD, 1985].

Como hemos apuntado anteriormente, existe una regulación de los mecanismos de degradación en el sentido de que las células controlan la síntesis de proenzimas y enzimas, así como su activación e inhibición. La actividad proteolítica puede ser limitada a la inmediata vecindad del lugar de secreción de un enzima activo, donde puede ser controlada mediante la secreción de inhibidores del mismo.

Los enzimas también pueden ser secretados en su forma proenzimática al mismo tiempo que se sintetiza la matriz y permanecer unidas a sus sustratos [CAMPBELL y cols., 1986b,c]. De esta manera, cuando son activados, el proceso proteolítico se desarrolla allí donde el proenzima es activado y no necesariamente en la vecindad de la célula.

La localización de la degradación, intra o extracelularmente, y el momento funcional son condicionantes que determinan el mecanismo de degradación. Así, es evidente que, por ejemplo, el colágeno y los proteoglucanos recién sintetizados son degradados con mayor facilidad que las moléculas matriciales, del mismo modo que es distinta la finalidad de la degradación [BERG y cols., 1980]. La destrucción intracelular de elementos recién sintetizados, suele estar dirigida a ejercer una especie de control de calidad del material producido y a conseguir la proporcionalidad entre los elementos sintetizados [BIENKOWSKI y cols., 1978; BIENKOWSKI, 1983, 1984].

Los mecanismos necesarios para la degradación de la matriz extracelular, evidentemente, guardan relación con el tipo de organización supramolecular de los elementos que la constituyen, ya que de las características de tal organización, va a depender la susceptibilidad proteolítica de la matriz.

No vamos a incidir en la descripción detallada de los tipos de enzimas que intervienen en la degradación de la matriz del cartilago, su lugar de síntesis, actuación e inhibición, puesto que resultaría excesivo para los fines de esta tesis. Insistimos en la especificidad de los enzimas que intervienen en la degradación, dadas las características de organización supramolecular de la matriz del cartilago.

Teniendo en cuenta que los principales componentes de la matriz extracelular son los colágenos, proteoglicanos y otras glucoproteínas de adhesión, la degradación de la matriz, sea cual fuere su finalidad, se debe, fundamentalmente, a procesos proteolíticos.

Los enzimas involucrados en dichos procesos, denominados proteinasas o endopeptidasas, se localizan intracelularmente en los lisosomas [BOND y BUTLER, 1987], y extracelularmente en el espacio pericelular o a distancia de las células que los producen. Dichos enzimas requieren para su actuación la presencia de ciertos aminoácidos, de tal modo que se clasifican según el mecanismo catalítico, indicándose en la denominación de cada grupo el aminoácido en cuestión:

1. **Proteinasa aspártico.** La más destacable es la catepsina D [SCOTT y PEARSON, 1978; WERB, 1989].
 2. **Proteinasa cisteína.** En este grupo se incluyen las catepsinas B y L [ROUGHLEY, 1977; KIRSCHKE y cols., 1982; PORTNOY y cols., 1986; TROEN y cols., 1988; NGUYEN, 1990].
 3. **Proteinasa serina.** Son las más abundantes [TRAVIS y SALVESEN, 1983] y en este grupo se encuentran la plasmina [CHRISTMAN y cols., 1962; YAMADA y cols., 1988], los activadores del plasminógeno [BUNNING y cols., 1987; PEPPER y cols. 1987; COLLIER y GHOSH, 1988], la kalikreina plasmática [NAGASE y cols., 1982], la elastasa y la catepsina G [VIRKA y cols., 1983].
 4. **Metaloproteinasa.** Dentro de este grupo se han localizado la colagenasa específica (MMP1) [CAMPBELL y cols., 1987; CAWSTON y cols., 1983; MOSCATELLI y cols., 1985; WERB y REYNOLDS, 1985], la estromalisina
-

(MMP3) [CHIN y cols., 1985; OKADA y cols., 1986, 1989; COLLIER y cols., 1988; HASTY, 1990], dos tipos de gelatinasa [HIBBS y cols., 1985; SALO y cols., 1985; GARBISA y cols., 1986; HASTY y cols., 1990] y la metaloproteinasa ácida [AZZO y WOESSNER, 1986].

Las proteinasas pertenecientes a los dos primeros grupos son generalmente activas a pH ácido, mientras que las de los dos últimos son activas a pH neutro o ligeramente alcalino [BOND y BUTLER, 1987].

Los eventos degenerativos matriciales, fundamentalmente proteolíticos y glucolíticos, no deben equipararse con la patología del cartilago, pues, como en la mayoría de los tejidos conectivos, es necesario un componente de renovación (*turnover*) normal de la matriz. La degeneración del cartilago solamente ocurre cuando la actividad proteolítica está fuera de control.

Los posibles orígenes de la degradación matricial pueden dividirse en procesos enzimáticos y no enzimáticos. Los agentes enzimáticos podrían ser, teóricamente, proteinasas o glucosidasas, aunque la mayoría de las glucosidasas producidas por las células de los mamíferos son almacenadas intracelularmente en los lisosomas y se cree que no juegan un papel activo en la matriz extracelular. Sin embargo, bajo algunas condiciones patológicas, esto no es así. En contraste, se fabrican muchas proteinasas, especialmente para la secreción y la acción fuera de las células y estos agentes son, por lo tanto, los primeros candidatos para causar la destrucción del cartilago. Los agentes no enzimáticos son principalmente metabolitos reactivos del oxígeno, los cuales pueden, potencialmente, degradar tanto las proteínas como los carbohidratos, y podrían ser de particular relevancia en la degradación extracelular de carbohidratos como el ácido hialurónico. De este modo, la necesidad de una glucosidasa extracelular podría ser soslayada.

Como hemos visto, son muchas las proteinasas que podrían estar potencialmente implicadas en la degradación del cartilago. Los candidatos más probables son aquellos que se segregan directamente desde los condrocitos y que incluyen a varios miembros de la familia de la metaloproteinasa, incluyendo la colagenasa (MMP1) y la estromalisina (MMP3) [WOESSNER, 1991]. La estromalisina tiene un gran potencial para destruir la matriz del cartilago a causa de su habilidad para degradar no sólo el núcleo proteico de los proteoglucanos, sino también los telopeptidos del colágeno fibrilar [WU y cols., 1991]. El mismo grupo de metaloproteinasa es producido por

células de otros tejidos conectivos, incluyendo la sinovial, particularmente durante la inflamación articular. Sin embargo, bajo estas condiciones, también habrá de tenerse en cuenta el aumento de proteinasas procedentes de células pertenecientes a tejidos no conjuntivos [POOLE, 1990]. De particular importancia son los enzimas de los leucocitos polimorfonucleares (elastasa y catepsina G), de las células cebadas (triptasa y quimasa), y una variedad de proteinasas del plasma sanguíneo que incluyen la plasmina, la trombina y la kaliceína. Finalmente, bajo ciertas circunstancias, habría un papel para la acción de las proteinasas lisosomiales de los condrocitos, incluyendo las catepsinas D, B y L. Con el vasto potencial degradativo reseñado anteriormente contra el cartilago articular, es sorprendente que, con su habilidad tan limitada para reparar, pueda sobrevivir las siete o más décadas de esperanza de vida en un ser humano normal. En la mayoría de los humanos, esta supervivencia es facilitada por cierto número de mecanismos de control. El primero de estos puede denominarse "compartimentación", por el cual, la mayoría de las proteinasas no son liberadas directamente en la matriz del cartilago y tienen dificultad para acceder a ella en circunstancias normales. Solamente las metaloproteiniasas del condrocito evitan los problemas de la compartimentación. Sin embargo, son objeto de una segunda forma de control. Al igual que todas las proteinasas son sintetizadas como proenzimas inactivos y requieren su activación antes de que pueda sobrevenir algún daño. La tercera línea de control viene representada por la necesidad de un agente estimulador, como por ejemplo una citoquina inflamatoria, para obtener los niveles máximos de producción de proteinasas. Los estímulos exógenos también son necesarios para la liberación de las proteinasas almacenadas intracelularmente. Como última línea de defensa, la matriz del cartilago y los fluidos corporales circundantes contienen varios inhibidores de proteinasas que pueden evitar la acción enzimática. Sólo cuando la totalidad de los cuatro niveles de control han sido superados, es probable que acontezca la degeneración del cartilago.

La degradación del cartilago provocada por metabolitos reactivos del oxígeno merecen una consideración diferente [HALLIWELL y GUTTERIDGE, 1986]. Estos agentes son producidos, principalmente, por los procesos fagocíticos de los macrófagos y los leucocitos polimorfonucleares, que provocan la aparición de superóxido por la acción de una oxidasa NADPH de la membrana celular. Intracelularmente, el superóxido se convierte en peróxido de hidrógeno por la acción de la superóxido dismutasa y, a su vez, éste se convierte en agua por la acción de la catalasa o es utilizado por una peroxidasa. Si el peróxido de hidrógeno escapase de su confinamiento celular podría participar indirectamente en la degradación de la matriz porque, en presencia de iones metálicos de transición disponibles, como el hierro o el cobre, puede

convertirse en un radical hidroxilo. El peróxido de hidrógeno es improbable que lo consiga, pero los radicales hidroxilo pueden romper rápidamente una importante variedad de proteínas y carbohidratos, incluyendo al colágeno, los proteoglicanos y el ácido hialurónico. Este proceso es de interés en condiciones normales porque se ha demostrado que los condrocitos tienen capacidad para producir peróxido de hidrógeno [TIKU y cols., 1990]. En la matriz extracelular existen dos mecanismos principales para controlar el daño excesivo debido a los radicales hidroxilo. En primer lugar, el hierro y el cobre son normalmente inaccesibles a la reacción de Fenton, que conduce a la producción de radicales hidroxilo a partir del peróxido de hidrógeno, pues aquéllos se encuentran unidos de manera estable a proteínas transportadoras, como la transferrina o la ceruloplasmina. En segundo lugar, la matriz extracelular contiene cierto número de metabolitos de bajo peso molecular, como la vitamina C y el glutatión, que son susceptibles de modificar los radicales y sirven como "limpiadores" o neutralizadores de la acción de los radicales. Por lo tanto, al igual que ocurría con las proteinasas, sólo bajo determinadas circunstancias, es probable que la degradación mediada por radicales cause un daño significativo en las moléculas estructurales de la matriz del cartílago.

Si se acepta que la rotura proteolítica de la proteína de unión del PG al AH es un reflejo general de los sucesos proteolíticos que acontecen en la matriz del cartílago, entonces, el único agente proteolítico que parece ser activo en la matriz durante toda la vida es la "estromalisina". Este resultado no es particularmente sorprendente por cuanto los condrocitos son capaces de producirla [MORT y cols., 1983]. La estromalisina podría representar el medio por el cual se mantiene la renovación normal de la matriz, concretamente en la juventud, cuando tiene lugar el crecimiento del tejido. De hecho, de acuerdo con los datos sobre las proteínas de unión, la estromalisina podría ser el único agente proteolítico activo en la matriz del cartílago joven. De igual forma, es indudable que en el caso de los adultos actúan agentes proteolíticos adicionales, aunque no está claro si esto viene determinado o es la consecuencia de la acumulación de insultos o agresiones subclínicas de la articulación.

La producción de proestromalisina por los condrocitos varía desde el nacimiento hasta la edad adulta, al menos, lo hacen los niveles de mRNA [NGUYEN y cols., 1992]. Hay una expresión considerablemente mayor de proestromalisina en el adulto que en el neonato por cada célula. La mayoría del aumento de esta expresión en el adulto ocurre en la superficie articular. Teniendo en cuenta que la superficie articular permanece intacta en los individuos normales, se presume que la mayor parte del proenzima no se convierte en estromalisina. Esto es compatible con los experimentos

de cultivo orgánico que indican la secreción única en el medio de cultivo de proestromalisina, pero proporciona una evidencia indirecta de la presencia de estromalisina en la matriz [CAMPBELL y cols., 1986a; CAMPBELL y cols., 1986c]. No se sabe qué agentes controlan la actividad del proceso, pero el mecanismo es de primerísima importancia porque se podría considerar que el cartilago adulto contiene una bomba de relojería, formada por enzimas latentes, que aguarda preparada. De hecho, se puede especular que en aquellos individuos en los que se pierde el control de la activación estarían predisuestos para la degeneración articular.

El hecho de que la actividad de la estromalisina esté controlada en un adulto normal es corroborado por la reciente aportación de datos sobre un anticuerpo monoclonal (CH3) que reconoce solamente la nueva secuencia amino terminal presente en la estromalisina generada LP3 [HUGHES y cols., 1992]. Este anticuerpo no reconoce dicha presencia cuando las proteínas de unión están intactas, ni reconoce otras formas LP3 generadas para diferentes proteinasas. El anticuerpo pudiera servir para determinar la proporción de proteínas de unión modificadas por proteólisis y presentes en una edad concreta y que podría haber sido causada por la acción de la estromalisina. Mientras la cantidad total de formas LP3 de las proteínas de unión aumenta con la edad en el cartilago humano, las LP3 derivadas de la estromalisina sufren una disminución real. Esto implica que mientras la estromalisina pudiera jugar un papel importante en el remodelado del cartilago epifisario en las edades tempranas de la vida, su papel disminuye con la edad, cuando otros enzimas serian los responsables de la proteólisis matricial. Todavía permanece abierta la cuestión sobre la presencia de una proteinasa condrocitaria sin identificar que pudiera ser la responsable de control de la renovación normal de la matriz de los adultos. La presencia de cada enzima se sostiene por los datos presentados sobre la ruptura de las proteínas de unión y datos similares obtenidos de los productos de degradación de los agregantes [SANDY y cols., 1991; FLANNERY y cols., 1992]. La molécula agregante es susceptible de proteólisis adyacente a su región globular G1, y el lugar de acción *in vitro* de la estromalisina no es el mismo que el generado cuando el cartilago se mantiene en un cultivo orgánico en presencia de interleucina 1 (IL-1). Esto sugiere que la IL-1 puede estimular la secreción de una "agregantasa" además de la estromalisina. Sin embargo, cuando el cartilago articular humano se mantiene en cultivo orgánico en presencia de IL-1, no hay más evidencia de actividad degradativa de PG en el medio de cultivo que la que puede ser generada por la proestromalisina [NGUYEN y cols., 1989].

Mientras que el papel de la estromalisina en el cartilago normal de edad podría ser ambiguo, parece mucho más definitivo en la degeneración del cartilago osteoartriti-

co. Así, los datos comunicados hasta ahora sostienen la producción aumentada de metaloproteinasa, compatible con las propiedades de la proestromalisina, en el cartilago osteoartrítico comparándolo con los cartilago normales, encontrándose las mayores cantidades en las regiones adyacentes a las lesiones, y detectándose estromalisina activa [DEAN y cols., 1989]. Además, la capacidad inhibitoria que confiere al tejido el "inhibidor tisular de las metaloproteinasas" (TIMP: "*Tissue Inhibitor of Metalloproteinases*") no sufre una gran alteración en el cartilago osteoartrítico, por lo que se deduce que el potencial proteolítico aportado por la proestromalisina excede a la capacidad inhibitoria. Esta situación es compatible con la acción de una citoquina como la IL-1 en el cartilago osteoartrítico: se sabe que este agente estimula la producción de proestromalisina en los explantes de cartilago humano sin afectar de manera importante a la producción de TIMP [NGUYEN y cols., 1992]. Para más abundamiento, en sistemas de cultivo orgánico, la IL-1 estimula la producción de estromalisina en todos los condrocitos a través de la matriz, y genera en ésta una deplección de PG, lo que sugiere que, al menos dentro de la matriz, tiene lugar la síntesis de estromalisina activa.

NGUYEN y cols. [1992] obtuvieron resultados aparentemente paradójicos en sus estudios sobre cartilago articular extraído durante una artroplastia en articulaciones con osteoartrosis de larga evolución. Se encontraron con que los niveles del mRNA de la proestromalisina en los condrocitos eran menores en el "cartilago artrítico" que los detectados en el cartilago articular adulto normal. Además, los estudios de hibridación *in situ* revelaron niveles reducidos para el mensajero de la proestromalisina incluso en la superficie articular, donde su abundancia es característica de los adultos normales. Por lo tanto, en estos especímenes, la producción de proestromalisina parecía haber sufrido una disminución en su regulación. Ciertamente, esto no es compatible con el tipo de estimulación que cabría esperar por la acción de las citoquinas inflamatorias. Tanto es así, que esto sugiere que el cartilago se encuentra bajo un proceso de reparación más que bajo un proceso degenerativo. Estos conceptos se sustentan por el estado de los PG del tejido pues, con la utilización de la Safranina O, no había evidencia de deplección de los mismos en la matriz. Además, las moléculas agregantes extraídas eran de un tamaño mayor que sus correspondientes en el cartilago adulto normal, y las componentes de las proteínas de unión de la matriz estaban, principalmente, en sus formas LP1 y LP2 intactas. Sin embargo, las formas LP3 que estaban presentes en el "cartilago intacto" mostraban los mismos lugares de rotura que el cartilago adulto normal. El hecho de que las formas LP3 de las proteínas de unión estén depleccionadas y que sea evidente la pequeña fragmentación característica del cartilago adulto normal, corroboran la idea de que los componentes matriciales de este tejido han sido depositados recientemente. Como corolario de esta observación puede afirmarse

que el cartilago procedente de articulaciones osteoartrósicas no es adecuado para determinar si fueron agentes proteolíticos únicos los que pudieron actuar durante el proceso artrítico.

II.2.3.3.- Mantenimiento de la matriz y regulación del metabolismo

La renovación del colágeno y los proteoglucanos parece ser un proceso muy rápido en los tejidos en crecimiento, pero en el cartilago adulto es muy lento, aspecto importante cuando se consideran los mecanismos de reparación. Las variaciones en los niveles de renovación que se aprecian en distintos cartilagos pueden estar en relación con las diferencias en la densidad celular, así, cuanto más celular es un tejido, más rápida es la renovación de los proteoglucanos. [MAROUDAS, 1975].

Las estimaciones basadas en los niveles de ^{14}C en cartilago humano sugieren que la renovación del colágeno es pequeña o nula en los adultos [LIBBY y cols., 1964]. Sin embargo, los experimentos en animales permiten detectar una síntesis de colágeno [REPO y MITCHELL, 1971]. Aún así, los tiempos de renovación del colágeno son de 120 años para el cartilago normal en el perro y 360 años para el cartilago articular humano [MAROUDAS, 1980a]. Esto sugiere la existencia de una escasa reposición del colágeno que podría ser suficiente para restaurar lesiones diminutas.

La renovación de los proteoglucanos es mucho más rápida que la del colágeno. En conjunto, en el cartilago articular del conejo adulto y del perro es aproximadamente de 300 días y en el cartilago articular de cadera humana es considerablemente más lenta, alrededor de 1.800 días [MAROUDAS, 1980a]. La vida media del queratán sulfato (2 o 3 meses) es mucho más larga que la del condroitín sulfato (3 o 4 días) [LOHMANDER y cols., 1973].

La regulación del metabolismo del cartilago involucra mecanismos genéticos y ambientales. Se conoce poco acerca de los primeros en el tejido normal, aún cuando tengan especial importancia en la condrogénesis, maduración y envejecimiento de cartilago.

En los diferentes tejidos conjuntivos (sinovial, cartilago, hueso, etc.) se encuentran células de origen muy diverso que, convenientemente estimuladas, pueden producir cantidades enormes de enzimas que intervienen en la regulación de los mecanismos de degradación.

Dentro de las finalidades de tal degradación se encuentra el mantenimiento o *turnover* de la propia matriz. Ello implica la ruptura previa de la organización supramolecular de los constituyentes, que necesariamente tendrá lugar en el compartimento extracelular. Este es el momento en el que intervienen enzimas con actividad depolimerasa, como la elastasa de los granulocitos o la catepsina G que actúan sobre las fibras de colágeno.

La intervención celular se ve modulada por la acción de sustancias que inducen o reprimen el desencadenamiento de los procesos proteolíticos. Esta modulación se realiza a diferentes niveles que afectan a la inducción o represión de la producción celular de enzimas o incluso al reclutamiento de células con potencial proteolítico. [HAMERMAN y KLAGSBRUN, 1985].

Los agentes moduladores no específicos son de procedencia y naturaleza muy diversas y tienen un peso molecular lo suficientemente bajo (menos de 60.000 daltons) [MIOSSEC y SANY, 1989] como para que sea posible su difusión a través de la matriz y tengan acceso al condrocito. Entre ellos se encuentran las citoquinas: IL-1 ("*interleukin 1*") [KRANE y AMENTO, 1980; WOOD y cols., 1983; DEWHIRST y cols., 1985; DAYER y cols., 1986], IL-6 ("*interleukin 6*") [AARDEN y cols., 1987; van DAMME y cols., 1987; GUERNE, 1989], TNF- α y β [DINARELLO y cols., 1986; MIOSSEC y SANY, 1989], que son importantes para las interacciones entre células y la respuesta inmunitaria. Otras sustancias moduladoras son los factores de crecimiento, las prostaglandinas E [KUNKEL y cols., 1986; KARBOWSKI y MATTHIASS, 1990] y la PLA2 [GILMAN y CHANG, 1990].

Es muy probable que las prostaglandinas induzcan la intercomunicación celular local, interviniendo así en el metabolismo del cartilago y del hueso. Se las considera como mediadores en el estrés mecánico, en los fenómenos eléctricos y en los mecanismos de control hormonal de las reacciones citobiológicas y citoquímicas del sistema esquelético [KARBOWSKI y MATTHIASS, 1990].

Estos factores, e incluso los mismos enzimas, intervienen en mecanismos de regulación muy complejos, dentro de los cuales se encuentra la propia autorregulación. Los mismos productos de la degradación matricial pueden actuar como agentes quimiotácticos y activadores sobre las células que intervienen en la degradación. Así, los componentes del cartilago articular actuarían como estímulos para activar o mantener los mecanismos de degradación. [KRANE y cols., 1980; MOORE y cols., 1989].

La patología del cartilago articular consiste, la mayoría de las veces, en un desequilibrio entre síntesis y degradación. Tal es el caso de la artrosis donde, independientemente de la causa desencadenante, se produce la activación metabólica del condrocito que resulta en un balance global negativo con un *turnover* aumentado [GARDNER, 1983; MIOSSEC y SANNY, 1987].

Es probable que en el mantenimiento de la matriz, en condiciones normales, predominen los mecanismos de resorción intrínseca, mientras que en los procesos patológicos, sea cual fuere su etiología, predomina la inducción extrínseca de la resorción matricial, que es la causante del desequilibrio entre la síntesis y la degradación, cuya perpetuación conduce a la destrucción articular [MOHR, 1986].

En otras patologías como la artritis reumatoide, en la que intervienen además factores inmunológicos, predominan los procesos destructivos con estimulación condrocitaria y osteoclástica. Estos procesos, aun existiendo también a distancia, son claros en el lugar de contacto directo del pannus [GREILING y cols., 1987].

El cartilago, dado su característico aislamiento vascular y poseyendo la barrera inmunológica que supone su matriz, es una estructura con una antigenicidad funcional muy débil. Sin embargo, en el momento en que dichas condiciones se alteran, se posibilita el establecimiento de interacciones entre los constituyentes modificados del cartilago (PG, colágeno, el propio condrocito, etc.) y el resto del sistema inmunitario.

La mayor parte de los estudios sobre la regulación del metabolismo condrocitario están restringidos a los proteoglicanos, probablemente debido a que la síntesis y degradación de los mismos se produce en un periodo de tiempo relativamente corto.

Los condrocitos actúan regulando el balance dinámico entre la síntesis y la degradación de PG, de manera que la cantidad de PG matriciales en el cartilago normal se mantiene en un nivel constante. Para ello, la relación de PG sintetizados debe ser mayor o igual a la de PG removidos del tejido [HANDLEY y cols., 1986].

La renovación de los PG en el cartilago parece ser rápida en los individuos jóvenes (5-10 días) frente a la mayor lentitud con que se realiza la renovación en la madurez (100-300 días) [MAROUDAS, 1979].

Cuando actúan sobre el cartílago factores exógenos, mecánicos y humorales, el estado de equilibrio se rompe y el condrocito responde alterando la concentración local de PG. De tal manera, cuando una articulación permanece inmóvil, las concentraciones de PG decrecen progresivamente, pero se vuelven a incrementar cuando dicha articulación se somete de nuevo a una carga normal, durando la respuesta un promedio de varias semanas [PALMOSKI y cols., 1979].

En el caso de las enfermedades articulares degenerativas (osteoartrosis), la pérdida de PG generalmente es mayor que la cantidad de PG repuestos [MANKIN y cols., 1986]. La pérdida de PG irreversible y progresiva determina una disminución de la función tisular que conlleva la exposición del hueso subcondral a fuerzas mecánicas enormes, lo que redundará en la exacerbación del proceso patológico.

Quizás debamos comentar aquí el papel de la presión hidrostática como elemento regulador del metabolismo matricial del condrocito [LIPIELLO y cols., 1985] y que reafirma la evidencia de que el cartílago necesita del movimiento y la carga para desarrollar una actividad metabólica normal [TREADWELL y MANKIN, 1986].

El condrocito interviene en la degradación proteolítica de los PG, bien a través de la liberación de enzimas lisosómicos (catepsinas D, B, H y L), o bien a través de la secreción de metaloproteinasas. La actividad extracelular de las catepsinas tal vez sea poco duradera, puesto que los niveles de pH extracelular no son los más indicados [ROUGHLEY y MORT, 1986].

Las metaloproteinasas condrocitarias, secretadas en forma de proenzimas, son de dos tipos, unas específicas del colágeno y otras con actividad proteolítica general capaces de degradar los PG. El pH óptimo para la degradación de los PG se encuentra alrededor de la neutralidad, requiriéndose para tal actividad la presencia de Ca^{2+} .

Se puede observar que en los cultivos de cartílago articular la cantidad de metaloproteinasa latente secretada es proporcional a la cantidad de PG que se libera [CAMPBELL y cols., 1986b], de manera que al parecer, una porción de enzima es activada *in situ*. Una vez activado el enzima, degrada tanto monómeros de PG como las proteínas de unión [CAMPBELL y cols., 1986c] de manera que es la responsable, en parte, de los cambios estructurales de los PG que se asocian a la edad: incremento de monómeros de PG de menor tamaño, acumulación de HABR y aumento de proteínas de unión de menor tamaño [ROUGHLEY y MORT, 1986].

En condiciones normales el condrocito no produce grandes cantidades de metaloproteinasas, pero la secreción aumenta bajo estímulos tales como la IL-1 [CAMPBELL y cols., 1986a; MORT y cols., 1987].

Entre los factores que intervienen en la regulación del metabolismo de los PG no podemos olvidar al AH, que disminuye selectivamente la síntesis de PG en condrocitos cultivados [SOLURSH y cols, 1974; WIEBKIN y MUIR, 1975], y cuyo metabolismo está íntimamente coordinado con el de los PG, puesto que su proporción de síntesis, proporción química y la vida media en los agregados es idéntica [MORALES y HASCALL, 1988]. Finalmente, mientras el 90% de los PG liberados por el cartilago articular aparecen en el medio de cultivo como macromoléculas parcialmente degradadas, el AH no aparece en el medio. Esto indica que el mecanismo para la eliminación de los macroagregados de PG puede consistir en: 1) la fijación del AH a la superficie del condrocito, 2) la separación del PG y proteína de unión del AH seguidas de su posible degradación en los lisosomas.

De este modo, las moléculas de la superficie celular que interactúan con el AH, pueden ser esenciales en la regulación tanto de los procesos sintéticos como catabólicos, [RAJA y cols., 1988].

En definitiva, el metabolismo de los PG está mediado por la interacción de los factores mencionados entre otros, dependiendo de las variaciones en las concentraciones de éstos, de que los factores presentes sean activos fisiológicamente y de la manera en que el tejido responda a los posibles cambios.

II.2.4.- Propiedades biomecánicas del cartilago articular

La **Biomecánica** nace de la aplicación de los principios de la mecánica newtoniana al estudio del comportamiento o función mecánica de organismos o estructuras biológicas.

El cartilago articular es una entidad mecánica sumamente importante para la función de la articulación puesto que transmite y distribuye altas presiones al hueso subyacente, manteniendo las fuerzas de contacto en niveles aceptablemente bajos, al tiempo que permite el movimiento con una fricción mínima y absorbe importantes fuerzas de choque.

Estas funciones son posibles en virtud de las características mecánicas del cartilago articular que, fundamentalmente, dependen o son el resultado de la interrelación de las propiedades mecánicas individuales de cada uno de los componentes del cartilago y de la organización estructural de los mismos. Las propiedades físicas, que son únicas de este tipo de tejido conjuntivo, residen principalmente en su enorme resistencia a la deformación y compresión, y dependen de la organización y mantenimiento de los componentes de su matriz extracelular (proteoglucanos, colágeno, agua, etc) [CATERSON y LOWTHER, 1978].

Si se aplican al cartilago articular los modelos teóricos elástico y viscoelástico, se le está considerando como un material unifásico, es decir, se está ignorando la existencia del gran componente de fluido del cartilago. No se puede despreciar el hecho de que la recuperación de la forma inicial del cartilago requiere que éste se encuentre sumergido en líquido [ELMORE y cols., 1963; SOKOLOFF, 1963]. Por otro lado, la presión que el líquido desarrolla en los poros del tejido soporta en parte la fuerza aplicada desde el exterior, de manera que influye de modo importante sobre la transmisión de la carga [ZAREK y EDWARDS, 1964].

El modelo bifásico desarrollado por MOW y cols. [1980] para el cartilago tiene en cuenta los efectos del flujo de fluido sobre la respuesta mecánica del tejido. En este modelo se combinan las ecuaciones que rigen en la presión y tensión de los componentes líquidos y de los componentes sólidos para explicar los procesos dependientes del tiempo, tales como la deformación (*creep*) y la "relajación" (mitigación) de la presión.

De las dos fases de que consta el módulo, la matriz sólida se considera linealmente elástica e incompresible y el fluido intersticial se considera no viscoso e incompresible.

La matriz sólida es porosa y permeable, y el movimiento de fluido a través de la matriz se ve obstaculizado por la fricción entre el agua y las paredes del poro. Existe, por lo tanto, un mecanismo de transmisión de la presión entre la matriz sólida y el líquido intersticial del tejido. De este modo, si se aplica desde fuera una fuerza sobre un material bifásico, la presión y la tensión cambian con el tiempo hasta que cesa el movimiento del fluido. A partir de este momento la carga soportada por el material depende de la consistencia de la matriz sólida.

El movimiento del líquido de un material bifásico se puede conseguir de dos formas, bien aplicando un gradiente de presión de fluido o bien deformando la matriz, como sucede en la extrusión [TORZILLI y MOW, 1976].

En el modelo bifásico aplicado al cartilago se simplifica al máximo el componente sólido de la matriz, quedando incluido en éste los distintos elementos matriciales del cartilago, de manera que se reúnen en dicho componente las características de todos los elementos matriciales.

Recordemos que el cartilago articular es un material bifásico, poroso, que se compone de hasta un 80% de fluido y un 20% de sólido.

La fase sólida se considera compuesta por una matriz de fibras colágenas, un gel de proteoglicanos, que suponen aproximadamente el 50-60% y el 30-35% respectivamente del peso seco del cartilago, y las células (condrocitos), glucoproteínas, lípidos, etc., que constituyen el porcentaje restante (5%-10%) de dicho peso seco.

La fase líquida intersticial, que en su mayor parte es agua, contiene solutos libres que proceden del líquido sinovial que baña el tejido y de los productos del metabolismo celular.

La composición que acabamos de relacionar es siempre aproximativa, puesto que, como veremos, todos los constituyentes varían su proporción en función de la edad, localización y estado de salud del cartilago.

La conservación de las propiedades biomecánicas depende muy directamente de la utilización de la articulación, pues la inmovilización las deteriora significativamente [JURVELIN y cols., 1986b, c] y, cuando ésta es prolongada, la recuperación nunca será completa [JURVELIN y cols., 1989].

II.2.4.1.- El agua

En ausencia de compresión del cartilago (reposo), la mayor parte del agua que contiene es intercambiable con el medio externo, de modo que puede transportar electrolitos móviles hacia o desde el tejido.

En cuanto a la proporción del contenido total de agua que se puede intercambiar por difusión existe cierto grado de desacuerdo, considerándose entre el

70% [DETHMERS y cols., 1981] y el 100% [MAROUDAS, 1980b], mientras que la mayoría de los autores coinciden en que el fluido intersticial puede ser exprimido por la acción de las fuerzas compresivas.

En los materiales compuestos por líquido libremente movable y un sólido permeable, como en el caso que nos ocupa, las presiones se ven reducidas por el movimiento del fluido a través del sólido. Por lo tanto, el contenido de agua del cartilago y el grado de permeabilidad de la matriz orgánica son factores determinantes sobre la deformabilidad y la transmisión de la carga.

No podemos dejar de reseñar aquí que el líquido excluido del cartilago, cuando es sometido a presión, también puede intervenir en la lubricación de la articulación sinovial [ARMSTRONG y MOW, 1980].

II.2.4.2.- Los proteoglucanos

Los PG en solución se extienden ocupando volúmenes hidrodinámicos enormes con relación a su peso molecular [HASCALL y SAJDERA, 1970] debido a la gran apetencia hídrica que determina la alta carga aniónica de estas macromoléculas.

Sin embargo, en el tejido los PG no se hidratan totalmente porque se lo impide la red de colágeno matricial y este estado de hidratación "contenida" genera una alta presión osmótica de DONNAN. De este modo, la presión de imbibición o tumefacción de los PG es contrarrestada por las fuerzas de tensión que se desarrollan en la red de colágeno, manteniéndolas pretensadas aún en estado de reposo del cartilago [MAROUDAS, 1976a].

Si el cartilago es sometido a compresión se produce un incremento instantáneo de la presión hidrostática al tiempo que el agua tiende a ser "expulsada" del lugar de compresión. Así, se produce localmente una mayor concentración efectiva de PG, creciendo también la presión de tumefacción hasta alcanzar un nuevo equilibrio en el que se contrarresta la presión aplicada.

Tendremos también en cuenta que cuando el agua es expulsada del territorio molecular del PG, las cargas negativas de los GAG están más próximas, viéndose por lo tanto incrementadas las reacciones intermoleculares (fuerzas de repulsión) [GRODZINSKY y cols., 1981].

Una vez se ha alcanzado el nuevo equilibrio cesa el flujo de agua. Sin embargo, cuando desaparece la compresión los territorios moleculares de los PG se expanden, el cartílago vuelve a embeber el agua disipándose el incremento de la presión de tumefacción y se alcanza otra vez el primitivo equilibrio precompresión.

De este modo, los PG controlan el contenido hídrico del cartilago durante la compresión [COMPER y LAURENT, 1978] e intervienen en el grado de dificultad o facilidad con que el agua puede fluir hacia o desde el cartilago, puesto que actúan directamente sobre la permeabilidad del mismo.

La interrelación colágeno-proteoglucanos es responsable de la estructura porosa del cartilago [MOW y cols., 1984], de manera que la permeabilidad es inversamente proporcional a la concentración de proteoglucanos [MAROUDAS, 1975]. Esto explica el descenso de la permeabilidad durante la compresión [ARMSTRONG y MOW, 1982] y que también disminuya según descendemos desde la superficie hacia la profundidad del cartilago.

Para el normal funcionamiento del cartilago es importante que el contenido de proteoglucanos sea alto, que sea también alta su densidad de carga y que los proteoglucanos sean incapaces de difundir libremente desde el lugar de compresión [ROUGHLEY y MORT, 1986].

Las propiedades biomecánicas de los proteoglucanos se originan por tres razones:

1. Retienen agua en el tejido mediante la producción de una alta presión osmótica de DONNAN.
 2. Ofrecen resistencia al flujo de líquido a través de la matriz, lo que implica la generación de altas presiones hidrostáticas y, por lo tanto, la resistencia a la compresión.
 3. Al estar inmovilizados en la red de colágeno, mantienen tensada dicha red haciéndola más resistente a la deformación [CARNEY y MUIR, 1988].
-

Se ha sugerido la posibilidad de que los proteoglucanos medien en la transducción de efectos mecánicos, químicos o fisicoquímicos en efectos metabólicos en el condrocito [COMPER y LAURENT, 1978]. LOTKE y cols. [1974] especulan con que estas acciones estén relacionadas con la inducción de potenciales en el cartilago articular. Dichos potenciales pudieran ser producidos por distintos mecanismos, tales como piezoelectricidad, flujo de iones por el desplazamiento del agua o efectos electroquímicos, y quizás podrían modificar el metabolismo del condrocito influyendo sobre el potencial de membrana celular [CARNEY y MUIR, 1988].

II.2.4.3.- El colágeno

La forma funcional del colágeno del cartilago es la fibrilla, constituida por series organizadas de moléculas de triple hélice. Las principales propiedades biomecánicas de dicha fibra son su consistencia y resistencia a la tensión. Son prácticamente inextensibles, puesto que sólo se alargan un 5% antes de la ruptura [BONNE y cols., 1986].

Por su morfología se podría pensar que la fibrilla ofrece muy poca resistencia a la compresión, ya que su relación longitud/sección es tan enorme que resultaría fácilmente deformable [MYERS y MOW, 1983]. Sin embargo, hay que considerar que, al igual que ocurre con los demás componentes del cartilago articular, las propiedades biomecánicas de cada elemento, individualmente considerado, son muy distintas de las que ofrecen cuando se combinan en el tejido, y dependen también de la organización estructural que éstos adopten.

Las fibrillas de colágeno son haces de moléculas que se empaquetan de manera holgada, formando un espacio intrafibrilar ocupado por agua e iones. Consecuentemente, se establece un gradiente de presión osmótica entre el espacio intrafibrilar y el extrafibrilar que contiene PG. La densidad de empaquetamiento fibrilar va a variar en relación con la concentración de PG, de manera que éstos influyen también sobre las propiedades mecánicas de la fibrilla. En el cartilago articular, por lo tanto, la densidad de empaquetamiento de la fibrilla se incrementa con la profundidad, ya que es con ésta con la que aumenta el contenido de PG [KATZ y cols., 1986].

La orientación espacial de las fibras de colágeno en el cartilago articular ha sido un constante objeto de estudio. Ha generado teorías y modelos estructurales muy diversos que intentan unificar las diferentes orientaciones zonales (tangencial, oblicua, radial) y dilucidar o explicar su participación o contribución en el comportamiento

biomecánico de dicho tejido.

Los métodos de estudio utilizados son muy diversos, de manera que el grado de sofisticación de los mismos es paralelo a la evolución de los medios técnicos:

- Microscopía óptica [BENNINGHOFF, 1925].
- "Picado" con punzón en la matriz y observación macroscópica de la orientación de las hendiduras producidas [BULLOUGH y GOODFELLOW, 1968].
- Luz polarizada y técnicas de interferencia [BROOM y MYERS, 1980a].
- Técnicas como MET y MEB, que aportan una mayor resolución e información sobre las fibrillas colágenas individuales.

Entre los modelos que surgen para explicar la orientación espacial de las fibras, destaca el sistema de arcadas propuesto por BENNINGHOFF, que ya hemos descrito previamente y en el que no vamos a insistir.

BROOM [1982] ha utilizado, en trabajos sucesivos, todas las técnicas mencionadas, llegando a la concepción de un modelo de distribución espacial fibrilar según el cual propone que la orientación oblicua y aparentemente desordenada de las fibrillas observada al MET, es el resultado de las frecuentes deflexiones laterales de cortos segmentos de las fibrillas, que de este modo se desvían a intervalos de su orientación fundamentalmente radial. Los fragmentos fibrilares decusados se entrelazan, de manera que se forma una red tridimensional pseudodesordenada.

En virtud del sistema de entrelazado, la red colágena resulta una estructura con refuerzos cortos y frecuentes, capaz de resistir sólidamente los cambios de forma que inducen los PG cuando es aplicada una fuerza [BROOM, 1986a].

El MET ha permitido observar la existencia de distintas asociaciones interfibrilares en la red colágena del cartilago articular, cuestionándose la posibilidad de que dichas asociaciones sean las responsables de las frecuentes deflexiones laterales de las fibras, cuya orientación de base es radial [BROOM y MARRA, 1986].

La red de fibrillas interconectadas y los PG hidratados que rellenan los espacios limitados por la red, constituyen un sistema compuesto y reforzado [BROOM y MARRA, 1985], de manera que, cuando actúan fuerzas de compresión, los mismos PG son responsables en parte del mantenimiento de la estructura pseudodesordenada de la red [BROOM y POLE, 1983].

Cualquier fallo en los factores que intervienen en el mantenimiento de la estructura descrita, tendrá como consecuencia la alineación y agregación entre fibrillas vecinas. Una matriz que ha sufrido tal reordenación, responderá deficientemente a las fuerzas de compresión [BROOM, 1986a].

Estas afirmaciones se han visto respaldadas al observarse que en cartílagos articulares patológicos las fibras matriciales se disponen predominantemente de forma radial y paralela, adoptando a menudo una disposición ondulada, que se acompaña de la ausencia de asociaciones interfibrilares [BROOM, 1984, 1986b].

El modelo propuesto por BROOM y cols., aparentemente complejo, es, sin embargo, una representación simplificada de la anisotropía estructural del cartilago articular. En él no se considera el componente celular que, aunque proporcionalmente es escaso, va acompañado de una compartimentación de la matriz en la que cada compartimento posee unas características estructurales y biomecánicas específicas.

POOLE y cols. [1984] han realizado, a nuestro entender, un trabajo sumamente interesante en el que estudian las características morfológicas y ultraestructurales de los compartimentos matriciales en condiciones de reposo y bajo compresión experimental, al tiempo que observan la respuesta fisiológica de la matriz del cartilago articular sano.

La matriz pericelular se caracteriza por su alta concentración de PG y la carencia de fibrillas colágenas; se delimita de forma más clara en la zona superficial del cartilago, ya que aquí no existe el compartimento territorial. En las capas más profundas se produce una transición suave entre los dos compartimentos.

La matriz pericelular está rodeada por una estructura fibrilar denominada *cápsula pericelular*, que es más ostensible en las zonas media y profunda. Esta cápsula es más densa en el polo articular que en el polo basal, y se compone de fibras finas entretrejidas que constituyen una red en forma de cesta. El diámetro de las fibras oscila entre los 10-25 nm y, en ocasiones, presentan una escasa periodicidad similar a la de

las fibras de la matriz territorial adyacente.

En la zona profunda del cartilago articular, el polo articular de la cápsula, más compacto, parece separar los compartimentos, mientras que en el polo basal las fibras se tejen pobremente, orientándose al azar y a menudo se extienden hacia afuera para entremezclarse con las fibras radiales de la matriz territorial.

En las zonas media y profunda del cartilago articular, el polo articular de la cápsula está atravesado frecuentemente por canales que parecen comunicar los compartimentos pericelular y territorial. Estos *canales pericelulares* son de tamaño y de forma variables, de diámetros que oscilan entre 0,2 y 1,8 μm , pero se localizan invariablemente en la cúpula de la cápsula y se orientan siempre en dirección a la superficie celular. Son el resultado de la condensación y reorientación localizada de las fibras de la cápsula, de manera que las sucesivas convergencias, angulaciones y divergencias de las fibras producen áreas de electrondensidad característica alrededor de la luz de los canales. Existen prácticamente en todas las cápsulas pericelulares y es infrecuente, pero no imposible, observar más de un canal en una misma cápsula.

POOLE y cols. [1984] han encontrado, de forma habitual, vesículas revestidas y material electrondenso en el interior de los canales; sin embargo, no han localizado ningún canal en las cápsulas pericelulares de los condrocitos superficiales, de por sí poco definidas en condiciones de reposo.

La matriz territorial se localiza inmediatamente por fuera de la cápsula pericelular y está constituida por haces de fibras colágenas dispersas y separados por espacios que ocupan los agregados de PG. Si se observan en cortes transversales, contrasta con la matriz interterritorial, mucho más compacta, apreciándose entre ambas una transición en la densidad de fibras colágenas.

La mayor electrondensidad de la matriz interterritorial no se debe sólo a la mayor proximidad de los haces de fibras colágenas, sino también al abundante material granular electrondenso que se asocia a las fibras. La concentración de este material aumenta con la profundidad del cartilago, está ausente de la capa superficial y no es eliminado por la decalcificación, ni se hace más patente con el uso de colorantes catiónicos.

En la matriz interterritorial aparecen *vesículas matriciales* cuyo contenido es muy similar al material que recubre las fibras de colágeno.

En la zona más superficial del cartílago, las vesículas matriciales revestidas de membrana están restringidas a la matriz pericelular, mientras que en las zonas media y profunda abundan en todos los compartimentos. Se disponen de un modo preferente por encima del polo articular de la cápsula pericelular, en la matriz pericelular y frecuentemente en la luz de los canales pericelulares.

El tamaño de la vesículas oscila entre los 70 y los 920 nm de diámetro y su contenido es también variable, siendo en ocasiones granular, poco regular o incluso lamelar.

POOLE y cols. [1984] describen el comportamiento de los elementos estructurales compartimentales cuando se les aplican fuerzas de compresión, observando que las fibras colágenas de la matriz territorial se colapsan al unísono originándose una reorientación sincrónica de las fibras, que adoptan una disposición ondulada en la proximidad de la matriz pericelular.

En la matriz interterritorial también existe una respuesta de reorientación similar, pero que es menos pronunciada y afecta sólo a fibras colágenas individuales, de forma desordenada y asincrónica.

En cuanto a la influencia de la presión sobre las células y grupos celulares, han observado que en los condrocitos superficiales se acentúa su forma aplanada. En la zona media, los condrocitos típicamente esféricos, junto con la matriz y la cápsula pericelulares, son comprimidos verticalmente adoptando una forma más ovalada.

En la zona profunda, las columnas de condrocitos resultan comprimidas verticalmente, produciéndose cierta deformación lateral que, en ocasiones, causa el desplazamiento y una ligera distorsión individual de los condrocitos y de las cápsulas que integran las columnas.

Los procesos celulares y las vesículas matriciales sufren una deformación similar, pero la fuerza de compresión no parece afectar al número de canales observados. Las fibras de la cápsula pericelular no se pliegan ni ondulan, sino que se enderezan y alinean, de manera que el canal pericelular se define de forma más clara.

La matriz pericelular bajo compresión se vuelve más electrodensa y las vesículas matriciales se acumulan inmediatamente por fuera de los canales pericelula-

res.

La observación de estas respuestas estructurales ante la compresión facilita la posibilidad de imaginar la dinámica de la respuesta del cartílago articular cuando se le aplican fuerzas de compresión.

Probablemente, la reordenación sincrónica de los haces de fibras colágenas de la matriz territorial bajo compresión se deba al hermético empaquetamiento de las fibras dentro del haz y la separación de los haces por el sistema de PG que contienen fluido. El mayor diámetro y la mayor densidad de las fibras colágenas de la matriz interterritorial, sumados a la consistencia que aporta la concentración tan alta de queratán sulfato, pueden aumentar su resistencia a la deformación por compresión, que se manifiesta por una reorientación reducida y asincrónica de las fibras colágenas.

Bajo compresión, la cápsula pericelular se hace más evidente, compacta y electrodensa. De hecho, en la zona superficial, es el único momento en que se distingue. Por otra parte, su deformabilidad y la de su contenido bajo presión, hacen pensar que su papel sea el confinar e impedir el desplazamiento de la matriz pericelular y del condrocito durante la compresión.

El estiramiento y la alineación de las fibras capsulares, que hacen más visibles a los canales pericelulares y la distribución de las vesículas matriciales durante la compresión, sugieren que en este momento se está produciendo un movimiento de fluido y vesículas desde la matriz pericelular hacia la matriz territorial.

El origen de las vesículas parece ser la gemación o el desprendimiento físico desde los procesos celulares, pero la función fisiológica no está totalmente esclarecida. Las notables diferencias de sus características ultraestructurales y de su distribución en la matriz, sugieren una gran variedad de funciones. Tales vesículas podrían representar el modelo por el que una extensa variedad de sistemas bioquímicos latentes, sintetizados por la célula y empaquetados, serían distribuidos aleatoriamente hacia posibles lugares de acción en la matriz territorial o intersticial. De este modo, el condrocito ejercería el control homeostático sobre la matriz del cartílago localizada a cierta distancia de la célula.

De los análisis estructurales descritos se pueden extraer conclusiones biológicas tales como que:

- La capa de fibras colágenas tangenciales de la zona superficial constituyen un diafragma que resiste las tensiones y distribuye las fuerzas sobre la superficie articular del cartilago, mientras que la disposición radial de las fibras de colágeno de las zonas más profundas y su alto contenido de proteoglucanos sugieren una función de absorción hidrostática de choques [ROTH y MOW, 1980].
- La extrusión de fluido y partículas desde la matriz pericelular hacia la matriz interterritorial a través de los canales pericelulares, parece indicar la existencia o, al menos, la generación de gradientes de presión entre los distintos compartimentos durante la compresión.
- La integridad funcional del cartilago articular depende de la baja permeabilidad hidráulica y de la marcada tendencia a la imbibición del componente hidrofílico de los PG del cartilago, así como del atrapamiento y contención del gel por parte de la red de fibras colágenas.
- Las células individuales o los grupos de condrocitos, rodeados por los distintos componentes matriciales, pueden actuar sinérgicamente constituyendo un sistema de suspensión hidroelástica biológico integrado.

Sin embargo, cada uno de los compartimentos puede sufrir una considerable deformación durante la carga, puesto que el espesor del cartilago se reduce hasta un 30% cuando es comprimido [BROOM y MYERS, 1980b].

De este modo, el cartilago articular puede considerarse constituido por una serie de sistemas de suspensión hidroelástica independientes, capaces de actuar juntos o separadamente en función de la extensión de la fuerza aplicada. La deformación y la variación de flujos permanece controlada y localizada, permitiendo una más rápida recuperación del estado de precompresión.

II.2.5.- Influencia de la edad, las condiciones mecánicas y la osteoartrosis sobre el cartílago articular

II.2.5.1.- Variaciones morfológicas, bioquímicas y biomecánicas con la edad

Al variar la estructura y la composición del cartílago articular con la edad, también se modifican las propiedades biomecánicas, perdiendo consistencia con el paso de los años [ARMSTRONG y cols., 1979; TKACZUK, 1986].

Sin embargo, hemos de distinguir los cambios que tienen lugar con la madurez de aquellos que van ligados al envejecimiento.

En los individuos jóvenes, en los que el crecimiento aún no ha cesado, el cartílago, con un mayor grosor, en parte es articular y en parte epifisario. La estructuración histológica todavía no es definitiva, las zonas media y profunda no se han definido y los compartimentos matriciales no están del todo constituidos. La disposición tangencial de las fibras colágenas, que en el adulto corresponden a la zona superficial constituyendo el 10% del grosor total del cartílago articular, en el individuo inmaduro predominan en el 50% del grosor total del cartílago. En cuanto a los proteoglucanos, monómeros y macroagregados, son más ricos en condroitín sulfato, de mayor tamaño y con un volumen hidrodinámico mayor que en el cartílago articular maduro.

Por último, hemos de tener en cuenta que el cartílago articular epifisario, por naturaleza más grueso, descansa sobre un tejido subcondral menos rígido que el que subyace al cartílago articular maduro. Todas estas características son responsables de la gran plasticidad [CAMOSSO y MAROTTI, 1962] y de la mayor respuesta mecánica del cartílago articular inmaduro [ROTH y MOW, 1980].

En los animales inmaduros los condrocitos (o condroblastos) sintetizan una cantidad importante de proteínas para favorecer la síntesis neta de tejido cartilaginoso y el crecimiento del núcleo epifisario subyacente que, posteriormente, sufrirá osificación endocondral. A medida que los animales se hacen más maduros, el nivel de síntesis disminuye y, finalmente, asume un valor constante que, presumiblemente, representa el nivel necesario para compensar el desgaste natural [MANKIN y BARON, 1965].

Los cambios primarios que se producen en los condrocitos como consecuencia de la edad, son, por tanto, la disminución de la actividad proliferativa y sintética y un cambio en el tipo de proteoglucanos que sintetizan. Estos cambios serían debidos a la senescencia celular [THONAR y cols., 1986; BUCKWALTER y cols., 1993, 1994]. La densidad celular decae bruscamente al alcanzar la madurez esquelética, pero la mayoría de los estudios sugieren que permanece relativamente constante en la vida adulta [STOCKWELL, 1967, 1979]. Sin embargo, con la edad, la morfología celular y la actividad sintética cambian. Las células acumulan filamentos intracitoplasmáticos y podrían perder algo de su retículo endoplásmico. Las células modifican sus patrones de síntesis para producir proteoglucanos más pequeños y variables, lo que podría alterar de manera adversa la estabilidad y las propiedades mecánicas del entramado macromolecular de la matriz [BUCKWALTER y cols., 1993, 1994; THONAR y cols., 1986; FRONT y cols., 1989]. Además, las células son menos sensibles a los factores de crecimiento que estimulan la síntesis matricial [MARTIN y BUCKWALTER, 1996]. Estos cambios podrían hacer que las células fuesen menos eficaces para reemplazar las macromoléculas degradadas de la matriz y para reparar la matriz tras una lesión.

Los estudios sobre las propiedades biomecánicas del cartilago no han encontrado cambios significativos relacionados con la edad en sus propiedades compresivas, pero en cambio si han demostrado disminuciones significativas en la resistencia a la tensión y a la fatiga [KEMPSON, 1982, 1991; ROBERTS y cols., 1986; BUCKWALTER y cols., 1993], que podrían hacer al cartilago más vulnerable a las lesiones derivadas de impactos únicos o repetidos y de las cargas torsionales. Las alteraciones de la matriz responsables de los cambios relacionados con la edad en sus propiedades tensiles no han sido identificadas, pero el contenido de agua generalmente disminuye con la edad, y tanto los proteoglucanos como el colágeno que forman los componentes primarios del entramado macromolecular de la matriz del cartilago articular sufren cambios relacionados con la edad [BUCKWALTER y cols., 1993; ROUGHLEY, 1993].

Los grandes agregados de proteoglucanos, responsables de proporcionar al tejido su resistencia a la compresión y su elasticidad, están sometidos a cambios significativos con la maduración esquelética. Con el MET se ha demostrado que se producen cambios en las dimensiones de los PG del cartilago durante el desarrollo fetal, durante la maduración esquelética postnatal y después de completarse el crecimiento esquelético [ROSENBERG y BUCKWALTER, 1986; THONAR y cols., 1986], de manera que se puede hablar de la existencia de cambios en la estructura de los PG del

cartilago que guardan relación con la edad [BUCKWALTER y ROUGHLEY, 1987; BUCKWALTER y cols., 1993, 1994].

Los cambios en los PG en relación con la edad se caracterizan por:

- Disminución en el tamaño y número de las cadenas condroitín sulfato acompañada de un incremento de la sulfatación 6 con respecto a la 4.
- Incremento en el tamaño y número de las cadenas queratán sulfato que se asocia a un descenso del número de cadenas de oligosacáridos unidos a O.
- Cambio en la composición de los aminoácidos de la proteína central, aunque la estructura de la región HBR parece mantenerse igual en todas la edades.

En consecuencia, los monómeros de PG en el adulto son de tamaño más pequeño y están menos glucosilados, afectando la mayoría de los cambios a la región de anclaje de GAG de la proteína central.

Estos cambios podrían tener tres orígenes:

- Una modificación (variación) de la expresión genética de la proteína central;
- la variación en la actividad de los enzimas postraslacionales responsables de la glucosilación y la sulfatación, y/o
- la modificación proteolítica de los proteoglicanos intactos después de su secreción hacia la matriz extracelular.

La consideración de estos cambios tiene una particular importancia, ya que existe una íntima relación entre el envejecimiento, las alteraciones de los PG y la osteoartritis.

Mientras los cambios sintéticos se producen en un grado similar en lugares anatómicos diferentes, pudiendo representar una respuesta preprogramada del

condrocito, los cambios de degradación suceden en grados distintos y en diferentes lugares. Estos niveles de degradación pueden ser reflejo de las distintas circunstancias a que está sometida cada articulación y, en consecuencia, el diferente grado de actividad de los enzimas proteolíticos. [ROUGHLEY y MORT, 1986].

Los agregados de PG también sufren cambios con la edad: se vuelven más cortos, con un menor número de monómeros por agregado y un menor tamaño de los monómeros que lo componen. Estos cambios en los grandes agregados se acompañan de una disminución o descenso en la tendencia a agregarse de los monómeros. [ROUGHLEY y cols., 1985].

Según ROUGHLEY [1987], la estructura de los proteoglucanos agregantes del cartilago articular humano cambia continuamente desde estadios fetales tempranos hasta la madurez adulta y se debe tanto a variaciones en la síntesis como a procesos de degradación.

Las variaciones en la síntesis son más evidentes antes del final del crecimiento, y de ellas se derivan los cambios estructurales y las variaciones en la cantidad de cadenas de GAG.

Si bien los cambios ligados a procesos de degradación suceden a lo largo de toda la vida, predominan durante el envejecimiento del adulto y el resultado es la fragmentación proteolítica tanto de las subunidades de PG como de las proteínas de unión, con la consiguiente producción de elementos que poseen capacidad de unirse al ácido hialurónico y acumularse en el tejido [MORT y cols., 1983, 1985]. El resultado es muy similar al que producen los radicales hidroxílicos, cuya liberación podría ser uno de los mecanismos que actúan con la edad [ROBERTS y cols., 1987].

En conclusión, según avanza la edad, los monómeros de proteoglucanos son más pequeños debido a la disminución del tamaño y el número de las cadenas de condroitín sulfato, que va acompañada del aumento en la proporción de cadenas queratán sulfato y la longitud de las mismas. Los agregados de proteoglucanos se vuelven igualmente más cortos y con un número menor de monómeros por agregado. A estas variaciones hay que añadir una menor capacidad de agregación de los monómeros. La proporción de monómeros agregados en el hombre evoluciona desde más del 75% en el recién nacido, al 35,8% a los 70 años y menos del 25% en individuos de mayor edad [BUCKWALTER y ROSENBERG, 1988].

La disminución en la agregación y en el tamaño de los agregados probablemente de debe a cambios severos en las moléculas y en la matriz. La degradación proteolítica libera en la matriz fragmentos moleculares que ocupan espacio y que podrían unirse al ácido hialurónico, con lo que inhibirían la agregación de moléculas totalmente funcionales. Las proteínas de unión, responsables de la estabilización y organización de los grandes agregados de proteoglucanos también experimentan una modificación proteolítica con la edad y una acumulación de moléculas alteradas en la matriz. Aunque las proteínas de unión alteradas se unen al ácido hialurónico y agregan proteoglucanos, serían menos efectivas en su estabilización [BUCKWALTER y cols., 1994].

El ácido hialurónico, filamento central de los agregados de proteoglucanos, disminuye su tamaño y aumenta su concentración en la matriz con la maduración [THONAR y SWEET, 1978]. No se conoce con certeza si el aumento de concentración del ácido hialurónico se debe a un aumento de su síntesis o a la acumulación de moléculas degradadas.

La matriz del cartilago también contiene una variedad de proteoglucanos no agregantes, incluyendo la decorina, biglucano y fibromodulina [ROUGHLEY, 1993]. No se conocen los cambios de la fibromodulina relacionados con la edad. La concentración de biglucano permanece relativamente constante, mientras que la concentración de decorina se incrementa desde aproximadamente la mitad de la concentración de biglucano en recién nacidos hasta duplicar la concentración del biglucano en los adultos [ROSENBERG y cols., 1985a; POOLE y cols., 1991]. Las funciones de estos proteoglucanos no han sido bien definidas pero afectan a la formación, organización y estabilidad de la matriz y pueden inhibir la adhesión y la migración y unirse a factores de crecimiento. Por lo tanto, una concentración aumentada de decorina podría afectar a la renovación de la matriz e inhibir su reparación.

El colágeno del cartilago también sufre modificaciones relacionadas con la edad que podrían alterar las propiedades del tejido [BUCKWALTER y cols., 1993; ROUGHLEY, 1993]. Con la edad, podrían incrementarse los puentes cruzados entre las moléculas de colágeno por medio de reacciones no enzimáticas de glucosilación. La fibras de colágeno de la matriz aumentan su diámetro y la variabilidad del mismo con la edad. Se piensa que estos cambios están relacionados, al menos en parte, con la disminución del contenido de colágeno tipo XI en relación con el colágeno tipo II. El mayor diámetro de las fibras de colágeno, junto con un mayor número de puentes

cruzados podrían comportar una menor flexibilidad y hacer que la matriz cartilaginosa fuese más rígida.

Como consecuencia de las modificaciones sufridas por los PG y el colágeno, cabe esperar una presión osmótica baja que va en detrimento del pretensado de las fibras colágenas. La resistencia al flujo de líquidos será menor y se verá agravada por la mayor difusibilidad de los proteoglucanos, acusándose la tendencia a la deshidratación bajo compresión. El incremento de la rigidez del cartílago combinado con una disminución del contenido acuoso podría limitar la capacidad del entramado macromolecular para deformarse repetitivamente sin dañar su estructura cuando soporta carga [BUCKWALTER y LANE, 1996].

La fatigabilidad de la red colágena irá unida a la disminución de la resistencia a la compresión en las zonas profundas. Si bien, la zona superficial conserva la respuesta mecánica, cualquier disrupción del colágeno en la zona superficial expone biomecánicamente las zonas profundas y permite la progresión de su deterioro [ROTH y MOW, 1980].

Por otro lado, los estudios transversales de articulaciones humanas muestran que la fibrilación focal del cartilago articular aparece por primera vez próxima a la edad de maduración esquelética [BULLOUGH y BRAUER, 1993; BUCKWALTER y cols., 1994]. Sin embargo, en la mayoría de los individuos la fibrilación localizada de la superficie articular no progresa, no se produce afectación del resto de la superficie articular ni se produce su avance hacia estratos más profundos del cartilago.

II.2.5.2.- Variaciones morfológicas, bioquímicas y biomecánicas producidas por las condiciones mecánicas

Los parámetros zonales del cartilago articular sufren variaciones en relación con su situación topográfico-funcional, o lo que es igual, en función de la carga que soporta el cartilago articular. Los grados de estrés mecánico y de movimiento de la articulación son de la mayor importancia para el mantenimiento de la integridad estructural del cartilago articular [SOOD, 1971].

La simple inspección visual denota un mayor grosor del cartilago en las regiones articulares que soportan mayor carga, con un menor número de células de un mayor tamaño y con una masa matricial también mayor. Estas características se invierten en las regiones que soportan menor carga. [HOLMDAHL e INGELMARK,

1948; VIGNON y cols., 1976; EGGLI y cols., 1988]. Esta diferencia en el grosor podría acentuarse con un incremento en las cargas fisiológicas [JURVELIN y cols., 1986a]. Sin embargo, desde que el cartilago alcanza el grosor medio normal correspondiente a una zona que soporta peso, la influencia de las cargas mecánicas parece ser sólo uno de los diferentes factores que influyen en él; las necesidades para la congruencia articular podrian ser otro [KINCAID y van SICKLE, 1981].

El estudio individual de las zonas del cartilago con carga pone de manifiesto la práctica ausencia de células en la porción más superficial de la zona I, lo que implica más baja densidad numérica y volumétrica, con un volumen matricial por célula aproximadamente dos veces mayor que en el cartilago sin carga. Esta escasez celular, puesta de manifiesto por EGGLI y cols. [1988], coincide con los datos previamente obtenidos por BULLOUGH y cols. [1985] en la zona no cubierta por el menisco del platillo tibial del perro y por VIGNON y cols. [1976] en la zona de carga de la cabeza femoral humana.

Las diferencias observadas en las zonas II y III de regiones funcionalmente distintas son mucho menores y están ausentes en la zona IV en la proximidad del *tide-mark*.

En lo que se refiere al tamaño celular, los condrocitos del cartilago con carga, en la zona I son ligeramente más grandes y con una forma más redondeada. Existe un incremento muy ostensible del tamaño celular, más del triple, entre las zonas II y III, pero en la zona IV las diferencias se vuelven menores. Recordemos que en el cartilago que soporta menor carga no existen variaciones zonales del tamaño celular.

El contenido celular en RER, mitocondrias y Golgi, es similar en todos los tipos funcionales de cartilago articular. Sin embargo, las zonas I, II y III del cartilago con carga muestran un incremento enorme del contenido de glucógeno y filamentos intermedios que, en parte, es el responsable del agrandamiento tan manifiesto del volumen celular en las zona II y III.

Las gotas de lípidos, frecuentemente asociadas al glucógeno y los filamentos intermedios, están también aumentadas en el cartilago con carga, si bien y a pesar del aumento relativo, la cantidad absoluta por célula es pequeña.

EGGLI y cols. [1988] hacen una interpretación funcional en base a la heterogeneidad estructural de las zonas del cartilago articular. Así, en la zona I, el

volumen celular y el volumen de organelas citoplasmáticas son similares a los existentes en otras zonas, pero hay que tener en cuenta que sólo el núcleo ocupa aproximadamente un tercio del volumen celular y que el volumen matricial por célula es considerablemente menor que en las zonas III y IV. Tales proporciones pueden ser los indicadores de que en la zona I existe un alto metabolismo matricial aún en condiciones basales. Recordemos que en las zonas II y III el volumen celular es significativamente mayor, fundamentalmente debido a un incremento de filamentos intermedios y glucógeno. Como habíamos comentado, se cree que los filamentos intermedios llevan a cabo una función mecánica y, en efecto, las presiones parecen ser más altas en la zona III [AKIZUKI y cols., 1986].

La presión que actúa sobre las células puede alcanzar las 2,5 atmósferas cuando el cartilago articular es comprimido [URBAN y cols., 1979] y es posible que las células de la zona III necesiten una alta actividad metabólica para contrarrestar tales fuerzas. De hecho se ha demostrado que la acumulación masiva de glucógeno en los condrocitos de esta zona guarda relación con una síntesis alta de proteoglucanos [MAZHUGA y CHERKASOV, 1974]. La captación de [³⁵S]-Sulfato alcanza también los valores máximos en esta zona [MAROUDAS y EVANS, 1974] y en la subyacente [AYDELOTTE y KUETTNER, 1985], en las que también se han encontrado las concentraciones más altas de condroitín sulfato matricial [BAYLISS y cols., 1983b].

Por lo tanto, la propuesta de GHADIALLY [1983] de que la acumulación de glucógeno sería el exponente de un metabolismo bajo y de degeneración de la célula, carece, para EGGLI y cols., [1988] de fundamento.

En la zona III, el volumen de RER por célula es mucho menor que en la zona I, lo cual implica que la renovación matricial de la zona I es relativamente mayor.

En definitiva, el gasto de energía en las zonas II y III obedece a influjos biomecánicos, excepto en el caso de individuos en crecimiento. En estas circunstancias las células de la zona III tienen también un gran volumen de RER [BRIGHTON y cols., 1984] y un alto nivel de síntesis proteica [MANKIN y BARON, 1965].

En la zona IV se da el volumen de matriz por célula más alto, las células poseen el mayor volumen absoluto de RER y, en contra de lo que hasta ahora se preconizaba, no muestran signos de degeneración o desintegración [EGGLI y cols., 1988].

El descenso de la celularidad, la ausencia de las células más superficiales y el incremento del volumen matricial por célula observados en la zona I del cartilago con carga, puede sugerir dos explicaciones:

- 1 Ya que en la zona I se encuentran más frecuentemente restos celulares y sufre las mayores cargas, podría pensarse que es en esta zona donde se produce un mayor índice de muerte celular. Este hecho también se ha interpretado como un signo precoz de osteoartrosis [DUNHAM y cols., 1985].
- 2 Que en la zona I, al igual que en las zonas II y III, los condrocitos tengan una mayor actividad de síntesis matricial en el cartilago sometido a carga *in vitro* [De WITT y cols., 1984; PALMOSKI y BRANDT, 1984; SLOWMAN y BRANDT, 1986].

El incremento del tamaño celular [HOLMDAHL e INGELMARK, 1948] y el acumulamiento de glucógeno [MAZHUGA y CHERKASOV, 1974] observados en las zonas II y III del cartilago con carga, son considerados como indicadores de una alta actividad sintética del condrocito. El ejercicio físico parece inducir también una elevación de dicha actividad sintética, ya que los condrocitos de las zonas II y III varían de tamaño, que se ve aumentado fundamentalmente a expensas de la acumulación de glucógeno y de filamentos intermedios [HOLMDAHL e INGELMARK, 1948; SÄÄF, 1950; PAUKKONEN y cols., 1984a].

En la zona III de las regiones con carga, el volumen medio celular es considerablemente mayor que en las regiones que soportan una carga menor. Dicho aumento se debe, una vez más, al acumulamiento de glucógeno y de filamentos intermedios, pero existe también un alto contenido celular de RER y aparato de Golgi, por lo que se asume que los condrocitos de dicha zona se encuentran en un estadio de alta actividad metabólica. Sin embargo, aunque el contenido matricial de PG es bastante alto en esta zona, el volumen matricial por célula y la densidad numérica celular no difieren de forma significativa entre la zona IV de regiones con carga o sin carga. [EGGLI y cols, 1988].

La distribución de los proteoglucanos depende de las condiciones mecánicas típicas de cada región. El mayor contenido de PG, que podría contribuir a una mayor "dureza" del tejido cartilaginoso [KEMPSON y cols., 1970] y los PG con mayor peso molecular, se encuentran exclusivamente en las áreas de cartilago articular que soportan más peso [MATTHEWS, 1952; BJELLE, 1975; YOSHIDA y AZUMA, 1982; BULLOUGH y cols., 1985; SLOWMAN y BRANDT, 1986; KIVIRANTA y cols., 1987] y también del cartilago que es sometido a un incremento de estrés mecánico [CATERSON y LOWTHER, 1978; TAMMI y cols., 1983; PAUKKONEN y cols., 1984a]. Precisamente, en las áreas que soportan más peso la cantidad de GAG es mayor que en las que soportan menos peso. Asimismo, la proporción queratán sulfato/condroitín sulfato es mayor en las primeras [SWEET y cols., 1977a; THONAR y cols., 1978; YOSHIDA y AZUMA, 1982].

En el cartilago articular maduro, tanto la concentración total de GAG como la proporción de queratán sulfato aumentan con la profundidad del tejido [STOCKWELL y SCOTT, 1967; MAROUDAS y cols., 1969, 1973; MAROUDAS y VENN, 1977; STOCKWELL, 1970; JONES y cols., 1977; VENN y MAROUDAS, 1977; VENN, 1978, 1979; MEACHIM y STOCKWELL, 1979; KIVIRANTA y cols., 1985]. El contenido de GAG en la zona superficial del cartilago articular canino es, aproximadamente, una quinta parte del que se encuentra en la zona profunda de cartilago sin calcificar (zona III) [KIVIRANTA y cols., 1987]. La distribución tangencial de los GAG en el cartilago produce un aumento gradual de la presión osmótica interna y, en consecuencia, proporciona al cartilago la resistencia elástica ante una fuerza aplicada a la articulación [MAROUDAS, 1976a; GREENWALD y cols., 1978]. Parece evidente que existe una relación estrecha entre el contenido y composición de los GAG con las cargas mecánicas que soporta el cartilago, y que su resistencia a la compresión depende de la concentración de GAG, especialmente del queratán sulfato [YOSHIDA y AZUMA, 1982]. Para una concentración determinada, la influencia del queratán sulfato sobre la "dureza" del cartilago es mayor que la del condroitín sulfato [KEMPSON y cols., 1970].

PAUKKONEN y HELMINEN [1987c] estudiaron la actividad sintética de los condrocitos mediante la cuantificación de la cantidad de RER. La carga extraordinaria de una articulación, provocada con una carrera continua (600 m/día, 5 días/semana, 8 semanas) o por la fijación en extensión de la pata contralateral, originó un incremento de un 20% y un 30% del RER en las zonas media y profunda del cartilago, respectivamente. En cambio, la inmovilización disminuyó la cantidad de RER de la zona

superficial en un 30%. Consideran que la hipertrofia celular y de las organelas, así como la replicación celular, son signos de procesos de reparación. En cambio, la acumulación de filamentos finos intracitoplasmáticos, considerados como signo de degeneración celular, se redujeron con el ejercicio.

La disminución persistente de la carga y de la movilidad de una articulación sinovial causa cambios en el cartílago articular que son paralelos a los cambios en los tejidos fibrosos densos periarticulares: los condrocitos cambian su actividad sintética, la concentración de proteoglicanos del cartílago disminuye, la organización de la matriz podría disminuir y las propiedades mecánicas se deteriorarían [BAKER y cols., 1969; BEHRENS y cols., 1989; ENNEKING y HOROWITZ, 1972; EVANS y cols., 1960; FINSTERBUSH y FRIEDMAN, 1973, 1975; GOOD, 1971; HALL, 1963, 1969; HELMINEN y cols., 1983; HOZSA y cols., 1987; JURVELIN y cols., 1989; OLAH y KOSTENSKY, 1972; PALMOSKY y cols., 1979; ROTH y cols., 1988; ROY, 1970; SAAMANEN y cols., 1990; TAMMI y cols., 1983, 1988; THAXTER, 1965; TROYER, 1975].

Aunque las contracciones musculares repetidas provocan carga en una articulación inmovilizada y podrían ayudar a preservar el cartílago articular, el mantenimiento de la estructura, composición y función de una articulación sinovial normal requiere la presencia de cargas y de movimiento [PALMOSKI y cols., 1980].

Las alteraciones del cartílago articular ocurren rápidamente tras una disminución persistente en el uso de la articulación. Una semana de inmovilización, provoca la aparición de rugosidades, más o menos importantes, en la superficie articular [JURVELIN y cols., 1985], que indica una participación temprana de la capa más superficial del cartílago en los cambios degenerativos [FINSTERBUSH y FRIEDMAN, 1973; FREEMAN y MEACHIM, 1979; LANGENSKIÖLD y cols., 1979; MEACHIM y STOCKWELL, 1979; GARDNER, 1980, 1983; PAUKKONEN y cols., 1984a]. Por otro lado, la disminución en el contenido de colágeno y proteoglicanos tras una semana de inmovilización, sugiere que se produce una deplección inmediata de macromoléculas matriciales en respuesta a la inmovilización [PAUKKONEN y cols., 1984a]. La capacidad de respuesta variará según la topografía articular. Así, el cartílago que está sometido a carga mecánica tiene más dificultad para restablecerse que el resto del cartílago. En cambio, el cartílago marginal, más periférico y con menos estrés mecánico, parece participar en la neosíntesis de macromoléculas matriciales durante fases más tardías de la inmovilización [MUIR, 1980; PAUKKONEN y cols., 1984a].

La cuantificación de los resultados histológicos atestiguan un incremento de células en la zona superficial del cartilago durante la inmovilización. Se especula con la posibilidad de que la deplección de macromoléculas matriciales del cartilago (debida, por ejemplo, a la fibrilación del cartilago), podría contribuir en la iniciación de la actividad mitótica de los condrocitos [PAUKKONEN y cols., 1984a]. Este intento de reparación viene corroborado por la confirmación de que los condrocitos sintetizan proteoglicanos ricos en condroitín-sulfato para intentar rellenar los defectos producidos en la matriz [MUIR, 1980; TAMMI y cols., 1983; PAUKKONEN y cols., 1984a].

La matriz de colágeno se encuentra ligeramente reducida, entre un 9% y un 16%, en los cóndilos femorales de conejos sometidos a inmovilización durante un período que oscila entre las 4 y las 8 semanas [PAUKKONEN y cols., 1984a]. Tanto el ejercicio como la inmovilización producen una disminución en el diámetro medio de las fibras de colágeno de la matriz territorial (perilacunar) de la zona media del cartilago [PAUKKONEN y HELMINEN, 1987a]. Esta disminución del diámetro podría ser reflejo de una neosíntesis de colágeno [EYRE y cols., 1980; VIDEMAN y cols., 1981] o de un deterioro de las fibras [PELLETIER y cols., 1983]. Sin embargo, el aumento del diámetro medio de las fibras de colágeno que se produce en la misma zona de los cartílagos contralaterales (en el caso de la inmovilización) parece indicar que el aumento de las cargas mecánicas junto con la disminución en la concentración de PG conducen a determinadas alteraciones en la nucleación de las fibras de colágeno, provocando la aparición de fibras aparentemente más gruesas [STOCKWELL, 1979].

Por el contrario, se produce un descenso en la concentración matricial de proteoglicanos cuando, o bien se inmoviliza la articulación, o cuando, sin inmovilizarla, se libera de la carga [SALTER y FIELD, 1960; OLAH y KOSTENSKY, 1972; CATERSON y LOWTHER, 1978; PALMOSKI y cols., 1979, 1980; TAMMI y cols., 1983; PAUKKONEN y cols., 1986; BEHRENS y cols., 1989]. Además de la disminución en la concentración, la inmovilización provoca una alteración rápida y reversible en la agregación de los proteoglicanos, lo que supone cambios en el comportamiento biomecánico del cartilago [PALMOSKI y cols., 1979] que consisten en un reblandecimiento del mismo [JURVELIN y cols., 1986b].

De todo lo expuesto se deduce que la inmovilización o la ausencia de estímulos mecánicos en una articulación provocan degeneración o atrofia del cartilago articular, alteraciones compatibles con la aparición de osteoartritis. La forma y el grado de presentación de estas alteraciones dependerá de varios factores biológicos y mecánicos [RADIN, 1983], entre los que podemos incluir el tiempo de inmovilización y el modo

de fijación de la articulación.

Seis o más semanas de inmovilización disminuyen el grosor del cartilago, el contenido de ácido urónico, la síntesis de PG y la capacidad de éstos para formar agregados. El cese de la inmovilización seguida de ambulación libre en un corral durante tres semanas provocó la reversión de los cambios. En cambio el ejercicio en tapiz rodante al cesar la inmovilización impedía dicha reversión, lo que indica que la carga frecuente e intensa de una articulación dañada impide la reparación [PALMOSKI y BRANDT, 1982b].

BEHRENS y cols [1989], demostraron que la rigidez de la articulación inmovilizada influye en la severidad del daño articular. Para ello utilizaban dos fijadores distintos, uno impedía cualquier movimiento de las rodillas mientras que el otro permitía entre 8° y 15° de movimiento. El contenido en agua del cartilago estaba aumentado en ambos grupos de rodillas, mientras la concentración de hexuronato disminuía un 23% cuando se permitía algún movimiento y un 28% cuando no se hacía. La fijación rígida también producía una depresión más severa en la síntesis de PG, un incremento en su pérdida y mayor dificultad para la recuperación del cartilago. Una semana después de cesar la inmovilización, las articulaciones que habían disfrutado de algún movimiento habían recuperado, casi, el contenido normal de hexuronato, mientras que en las otras la recuperación era muy escasa o no existía.

La inmovilización continuada de las articulaciones causa finalmente un daño irreversible, incluyendo contractura de los tejidos fibrosos densos periarticulares, y de los músculos que atraviesan la articulación, pérdida del cartilago articular y obliteración de la cavidad articular por tejido fibroadiposo [ENNEKING y HOROWITZ, 1972; FINSTERBUSH y FRIEDMAN, 1975]. Una vez que este tejido ocupa la articulación, los intentos por restablecer forzosamente la movilidad lo desgarran, generalmente en un plano diferente al de la cavidad articular original, y arrancan fragmentos del cartilago articular [EVANS y cols., 1960; ENNEKING y HOROWITZ, 1972].

El tiempo de inmovilización necesario para dañar irreversiblemente una articulación sinovial depende, probablemente, de la articulación y de la especie animal. La mayoría de los estudios animales indican que una removilización controlada puede revertir el daño causado por un mes o más de inmovilización. En las articulaciones de las ratas se consigue la reversión de los cambios provocados por treinta días de inmovilización; sin embargo, sesenta días serían suficientes para causar cambios

irreversibles [EVANS y cols., 1960]. Cuando se trata de las rodillas de conejos, dos semanas de inmovilización no provocan cambios detectables permanentes, pero después de seis semanas algunas articulaciones desarrollan contracturas [FINSTERBUSH y FRIEDMAN, 1975]. En las rodillas de los perros, bastan seis días de inmovilización para disminuir la síntesis de PG un 41% y tres semanas para causar una pérdida de agregación de los mismos, que se restablece con dos semanas de movilidad activa [PALMOSKI y cols., 1979]. En un estudio similar sobre articulaciones caninas se comprobó que quince semanas de removilización aumentaban, pero no restablecían completamente, las propiedades mecánicas del cartilago articular de perros sometidos a once semanas de inmovilización [JURVELIN y cols., 1989].

Los cambios originados por la inmovilización son similares a los derivados de la osteoartritis, y sus manifestaciones dependerán de la manera en que se haya llevado a cabo la fijación de la articulación. En la *inmovilización en flexión*, donde la contracción de los músculos que mueven la articulación está reducida, se producen cambios atróficos en el cartilago articular, pero no hay formación de osteofitos ni fibrilación [PALMOSKI y BRANDT, 1982a]. La *inmovilización en extensión* (que causa una excesiva presión intraarticular provocada por la contractura muscular y la retracción cápsulo-ligamentaria) o *con fuerzas de compresión continuas*, tienen efectos negativos y conducen a la osteoartritis [SALTER y FIELD, 1960]. La *movilización articular en ausencia de cargas normales* produce cambios articulares atróficos y osteoartrosicos [PALMOSKI y cols., 1980], mientras que la *compresión continua con movimiento articular* generará osteoartritis [GRITZKA y cols., 1973].

Aparte del mecanismo causante de la inmovilización, sus efectos dependerán de la zona de la articulación de que se trate, teniendo en cuenta si son lugares en los que los cartílagos opuestos se mantienen o no en contacto [AKESON y cols., 1980]. Mientras que en el primer caso, cuando los cartílagos se mantienen en contacto, la gravedad de los cambios producidos depende del grado de compresión, en las áreas en que no existe contacto puede tener lugar cierto crecimiento o invasión del tejido conectivo sobre la superficie articular.

En todos los animales con un miembro inmovilizado se detectaron cambios osteoartrosicos, de moderados a medios, en la extremidad contralateral [CATERSON y LOWTHER, 1978; VIDEMAN y cols., 1981; VIDEMAN, 1982a]. Desde el punto de vista cualitativo, los cambios degenerativos que se producen en el cartilago articular de una articulación inmovilizada también se encuentran en la articulación contralateral, si bien, en ésta última los cambios no son tan obvios. [PAUKKONEN y cols., 1986].

Aparentemente, estos cambios se deben con más probabilidad a un aumento en el peso que soporta la articulación móvil, pues la actividad motora (cantidad de movimiento) no es mayor que en animales controles [TAMMI y cols., 1983]. También se apunta un posible mecanismo nervioso, pues LEVINE y cols. [1985] han descrito la aparición de una inflamación por vía nerviosa en la articulación contralateral de la que sufre una agresión. Pudo comprobar la aparición de un infiltrado inflamatorio en la sinovial de la articulación contralateral sana que, en cierta medida, la prepararía o prevendría para el caso de que ocurriese una agresión similar en ella.

El número de gránulos de PG está claramente disminuido, tanto en el cartilago de una rodilla inmovilizada como en el de la contralateral, que se encuentra sobrecargada; en ambas se desarrollará una osteoartrosis [PAUKKONEN y HELMINEN, 1987a]. Estos datos se corresponden con la deplección del contenido de GAG observado en estudios bioquímicos previos [MANKIN y cols., 1971; EHRlich y cols., 1975; ERONEN y cols., 1978]. Curiosamente, el número de gránulos de proteoglicanos también se encuentra ligeramente disminuido en los cartilagos de animales sometidos a ejercicio (carrera) [PAUKKONEN y HELMINEN, 1987a]. Atendiendo a que el contenido de GAG en los cartilagos sometidos a ejercicio se encuentra aumentado, la disminución en el número de gránulos de PG sólo se explica porque el tamaño de los mismos se encuentra aumentado [TAMMI y cols., 1983].

Los condrocitos de las diferentes zonas del cartilago articular tienen la capacidad de producir subunidades de PG (gránulos) de un tamaño medio aproximadamente igual. El gradiente que se suele encontrar en el cartilago articular normal (disminución del tamaño con la profundidad) tiende a desaparecer con la inmovilización y el ejercicio [PAUKKONEN y HELMINEN, 1987a]. En estos casos, el aumento en el tamaño medio de los gránulos se debería a un cambio en el tamaño y clase de los mismos en todas las regiones del cartilago. El gradiente que se establece entre la matriz pericelular y la interterritorial también está alterado en el mismo sentido. Estas observaciones sugieren la presencia de una población homogénea de subunidades de PG neosintetizadas.

PAUKKONEN y HELMINEN [1984a, b], basándose en los datos obtenidos, proponen el siguiente modelo para explicar la influencia de las condiciones mecánicas sobre el cartilago articular. El estrés mecánico o la sobrecarga de la articulación tiene efectos tanto anabólicos como catabólicos sobre el cartilago articular, dependiendo del grado de estrés. Inicialmente, incluso de manera fisiológica, las cargas leves (carrera) sobre el cartilago articular causan un aceleramiento de la degradación de las

subunidades de PG ya existentes (disminuye su número). La pérdida de PG se compensa por el aumento en la síntesis de nuevas y mayores subunidades (aumento de tamaño). La porción larga de la molécula rica en condroitín sulfato es, posiblemente, la responsable del aumento del diámetro de los gránulos de la matriz. El condroitín sulfato de los PG parece tener la mayor importancia en cuanto a las interacciones con el colágeno, y de aquí, su relevancia en el mantenimiento de la integridad del tejido cartilaginoso. Así pues, si el esfuerzo mecánico sobre el cartilago articular no es excesivo, los condrocitos son capaces de reemplazar gradualmente las subunidades de PG viejas y parcialmente degradadas por subunidades nuevas y de mayor tamaño, lo que supone un aumento de la cantidad total de GAG. El cartilago será entonces más resistente ante el estrés mecánico. En cambio, si las demandas mecánicas sobre el cartilago son excesivas, la degradación de subunidades de PG (mayor disminución de su número) podría superar el nivel de producción de moléculas nuevas y de mayor tamaño, causando un reducido número de interacciones con la red de colágeno. Como resultado de este proceso, la integridad del tejido estaría disminuida y la red de colágeno se debilitaría. Finalmente, tendrán lugar la fibrilación y la osteoartritis.

II.2.5.3.- Variaciones morfológicas, bioquímicas y biomecánicas en la osteoartritis

La osteoartritis primaria consiste en una pérdida generalizada y progresiva del cartilago articular, acompañada de un intento de reparación del mismo, de remodelación del hueso subcondral y, en muchas ocasiones, de formación de osteofitos [BUCKWALTER y MARTIN, 1995]. Clínicamente, la osteoartritis se presenta con dolor articular y pérdida funcional, sin embargo, no todos los cambios degenerativos del cartilago articular están asociados con dolor y pérdida de movilidad, y no todas las personas con síntomas de osteoartritis tienen evidencia radiográfica de la misma. Tampoco todos los cambios degenerativos progresan con la edad, incluso en personas que tienen un diagnóstico clínico radiológico de la enfermedad. A pesar de que el sufijo "itis" implica inflamación, la osteoartritis es una enfermedad degenerativa que infrecuentemente tiene asociado el componente inflamatorio. Más bien, consiste en una secuencia regresiva de cambios celulares y matriciales que conducen a una pérdida estructural y funcional del cartilago articular, acompañada de un intento de reparación del cartilago y una remodelación del hueso subcondral. Precisamente, a causa de estos dos últimos fenómenos, la osteoartritis no tiene una secuencia progresivamente uniforme de cambios degenerativos y el grado de degeneración articular varía entre los individuos y entre las articulaciones del mismo individuo. Ocasionalmente la evolución puede ser

rápida, pero en la mayoría de las articulaciones progresa lentamente a lo largo de muchos años e incluso podría estabilizarse o llegar a mejorar de manera espontánea con cierta reparación parcial de la superficie articular y disminución de los síntomas.

La osteoartritis afecta a la totalidad de los tejidos que forman la articulación sinovial, incluyendo el cartílago articular, el hueso subcondral y epifisario, la membrana sinovial, los ligamentos, la cápsula y los músculos periarticulares. Sin embargo, los cambios primarios consisten en pérdida de cartílago articular, remodelación de hueso subcondral y formación de osteofitos.

La osteoartrosis o enfermedad articular degenerativa es una entidad nosológica en la que inicialmente los condrocitos del cartílago articular están alterados sin la intervención de otro tipo de células, produciéndose, con el tiempo, cambios en la bioquímica del cartílago que conducen al fracaso del tejido como material capaz de soportar carga.

Aunque la artrosis es más frecuente en individuos de edad avanzada, los cambios en la composición del cartílago artrósico son diferentes a los resultantes del envejecimiento y se deben a alteraciones del metabolismo condrocitario [LUST y SUMMERS, 1981; CARNEY y MUIR, 1988].

El primer signo visible de osteoartritis es una fibrilación localizada o una disrupción de los estratos más superficiales del cartílago articular, de manera similar pero no idéntica a los cambios que se observan con la edad. Al contrario de la fibrilación superficial generada por el envejecimiento, que no es progresiva, la fibrilación provocada por la osteoartritis, si lo es: la mayor parte de la superficie articular se vuelve rugosa e irregular y la fibrilación se extiende hacia zonas más profundas del cartílago hasta alcanzar el hueso subcondral. Las fisuras del cartílago crecen en profundidad, los extremos de los desgarros del cartílago fibrilado liberan fragmentos hacia la cavidad articular y disminuyen el grosor del cartílago. Al mismo tiempo la degradación enzimática de la matriz contribuye a la disminución del volumen del cartílago. Finalmente, la pérdida progresiva del cartílago articular conduce a la exposición del hueso. Muchos de los mecanismos responsables de la pérdida progresiva del cartílago durante la osteoartritis primaria son desconocidos, pero puede considerarse que el proceso ocurre en tres fases: daño del cartílago, respuesta condrocitaria y fracaso de dicha respuesta [BUCKWALTER y MARTIN, 1995].

En la primera fase, antes o simultáneamente a la aparición de la fibrilación, el entramado macromolecular de la matriz se rompe y el contenido de agua aumenta. La concentración de colágeno permanece constante y aparece una disminución en la agregación y concentración de los proteoglicanos y en la concentración del ácido hialurónico [SWEET y cols., 1977b; BUCKWALTER y MARTIN, 1995]. Estos cambios incrementan la permeabilidad y disminuyen la resistencia de la matriz, alteraciones que podrían incrementar la vulnerabilidad del tejido. Los condrocitos detectan el daño tisular, posiblemente como resultado de los cambios en la osmolaridad, o en la densidad de la carga, o en la presión aplicada a través de la membrana celular.

Una vez que los condrocitos detectan daño, liberan mediadores que estimulan una respuesta tisular. Probablemente el óxido nítrico tenga un papel en esta respuesta, ya que los condrocitos producen esta molécula en respuesta a diferentes estreses mecánicos y químicos. Este óxido difunde rápidamente y puede inducir la liberación de interleucina-1 que estimula la expresión de metaloproteasas que degradan las macromoléculas matriciales. También los fragmentos de fibronectina u otras moléculas presentes en el tejido dañado podrían promover la producción continua de IL-1. La degradación de los colágenos de tipo IX y XI y otras molecular podrían desestabilizar la red de colágeno tipo II y, aunque estas fibras resultan inicialmente intactas, se permitiría la expansión de los agregados de proteoglicanos y un aumento del contenido acuoso. Esta degradación enzimática destruye los componentes dañados de la matriz y podría liberar citoquinas anabólicas, previamente atrapadas en la matriz, que estimulan la síntesis de macromoléculas matriciales y la proliferación de los condrocitos. La respuesta sintética contrarresta los efectos catabólicos de las proteasas y podría estabilizar o, en algunos casos llegar a restaurar el tejido [BUCKWALTER y MARTIN, 1995].

El cambio cuantitativamente más importante en el cartílago osteoartrósico es un aumento en el número de células de la zona superficial. Este aumento se debe a un incremento de la actividad mitótica [HULTH y cols., 1970, 1972] que, probablemente, esté estimulado por la pérdida de matriz extracelular [STOCKWELL, 1979].

El fracaso para estabilizar o restaurar el tejido conduce a la tercera fase de la degeneración cartilaginosa, una disminución en la respuesta de los condrocitos que podría resultar irreversible. Cuando esto ocurre, se acelera la pérdida de matriz

extracelular y las células comienzan a morir [ROY, 1970; GRITZKA y cols., 1973]. La zona superficial, carente de células, está abocada a convertirse en una superficie erosionada. Este proceso, primero la pérdida de matriz que aumenta la densidad celular para luego disminuir y conducir a la erosión de la superficie articular, se produce gradualmente en zonas cada vez más profundas del cartílago articular, hasta llegar a alcanzar al hueso subcondral [PAUKKONEN y cols., 1986]. Este mecanismo, observado en animales y en períodos de tiempo relativamente cortos, probablemente se dé también en humanos a más largo plazo. La diferencia sería que el incremento del número de células sólo se encontraría en zonas de lesión reciente, mientras que el resto del cartílago sería hipocelular.

El fracaso puede deberse al daño mecánico y a la falta de protección que una matriz funcionalmente normal ofrece a las células. Pero también parece estar relacionado, o al menos iniciado, por una disminución en la respuesta de los condrocitos ante las citoquinas anabólicas. Esto podría ocurrir como resultado de la síntesis y acumulación de moléculas en la matriz que ligan citoquinas anabólicas [BUCKWALTER y MARTIN, 1995].

El cartílago articular se "hincha" por un incremento en su contenido de agua [MANKIN, 1974] como consecuencia de la disminución de las interacciones entre el colágeno y los proteoglicanos y, subsidiariamente, por la "relajación" de la red de colágeno [BROOM, 1982]. En último lugar, junto con la erosión superficial, tiene lugar una reparación hipertrófica en las zonas más profundas del cartílago [VIGNON y cols., 1983].

Los cambios estructurales en los proteoglicanos del cartílago articular artrósico están relacionados con un incremento relativo de la proporción de condroitín sulfato respecto al queratán sulfato [VASAN, 1980; COX y cols., 1985]. Existe una pérdida generalizada de proteoglicanos y una disminución en el contenido de ácido hialurónico del tejido [EGUCHI y cols., 1974]. Los agregados de proteoglicanos son más pequeños [ALTMAN y cols., 1984] y su capacidad de agregarse es menor [TESHINA y cols., 1983]. A pesar de ello, en los momentos iniciales de instauración de una osteoartritis podemos asistir a un aumento en la síntesis de la matriz extracelular y, por lo tanto, del grosor del cartílago articular, que permitirá que el cartílago mantenga su capacidad funcional a pesar de la presencia de una alteración mecánica persistente [BRAUNSTEIN y cols., 1990]. El cartílago osteoartrósico es capaz de conseguir una síntesis de PG cualitativamente

casi normal mientras que en la matriz extracelular acontecen cambios degradativos postsintéticos. Como veremos más tarde, estos intentos fracasarán, pues el cartílago pierde su funcionalidad y la articulación su integridad. [MOSKOWITZ y cols., 1982; GOLDBERG y cols., 1984].

Diferentes estudios han demostrado que el cartílago osteoartrosico presenta un aumento en la síntesis de PG [McDEVITT y MUIR, 1976; RYU y cols., 1984; SANDY y cols., 1984] y colágeno [LIPIELLO y cols., 1977; EYRE y cols., 1980; RONZIERE y cols., 1990]. En las zonas media y superior se detecta la síntesis de colágeno tipo II, en un intento de regeneración de la matriz [AIGNER y cols., 1992]. El colágeno tipo X se identificó en la matriz del cartílago profundamente fibrilado o erosionado [von der MARK y cols., 1992a] y en los osteofitos [HOYLAND y cols., 1991]. Como el colágeno tipo X se sintetiza primariamente en los condrocitos hipertróficos del platillo de crecimiento fetal [GIBSON y cols., 1982; REMINGTON y cols., 1984; SCHMID y LINSENMAYER, 1985, 1987], su hallazgo en el cartílago osteoartrosico indicaría que en su destrucción podría estar implicada una hipertrofia prematura de los condrocitos, hecho que conduce a la formación de colágeno tipo X matricial y a una calcificación potencial [GERSTENFELD y LANDIS, 1991; DESCALZI-CANCEDDA y cols., 1992; KIRSCH y von der MARK, 1992].

La aparición de colágeno tipo X en el cartílago articular erosionado indica una hipertrofia prematura de los condrocitos que en el cartílago sano permanecen sintetizando colágeno tipo II. Todavía no está claro el papel del colágeno tipo X en la etiología de la enfermedad, pero se sabe que es incapaz de formar un entramado comparable al de los colágenos tipos II/IX/XI, que debilitaría a la matriz del cartílago y que quizás la preparase para su calcificación. La identificación del colágeno tipo X en el cartílago osteoartrosico podría usarse como un marcador diagnóstico para reconocer la alteración irreversible del fenotipo condrocitario. [AIGNER y cols., 1993].

La pérdida de proteoglucanos permite una mayor hidratación de los existentes y, consecuentemente, la presión osmótica y la presión de imbibición son menores, por lo que el tejido cede más fácilmente bajo presión. La menor concentración de proteoglucanos y la mayor hidratación del tejido aumentan su permeabilidad y, además, se facilita el acceso hacia la matriz de moléculas que en condiciones normales estarían excluidas [BURTON-WURSTER y cols., 1986].

La morfología, la composición bioquímica y el nivel de síntesis del colágeno varían, sin que por ello se produzcan alteraciones apreciables en la concentración total del mismo [MANKIN, 1974]. Algunos autores [MAROUDAS, 1976a; FREEMAN, 1980] sugieren que la fatiga y la disrupción de la red colágena ocurren muy precozmente y serían las responsables del aumento del contenido de agua. La ultraestructura del cartílago revela una disposición más próxima, paralela y radial de las fibras colágenas, agregados de fibrillas ondulantes en fase e incluso rizados. Este aspecto de la estructura colágena es ostensible incluso en tejidos osteoartrósicos aunque no hayan sido sometidos a estrés. Estos cartílagos responden precariamente incluso ante presiones muy ligeras [BROOM, 1986a; ROBERTS y cols., 1986].

Si bien la deformación instantánea bajo compresión depende más directamente de las fibras colágenas, los proteoglucanos intervienen en dicha respuesta ya que modulan el pretensado a través de su efecto osmótico. De tal modo, cuando se ha producido la deplección de proteoglucanos existe un incremento dramático de la deformación instantánea [MIZRAHI y cols., 1986]. Aunque el cartílago osteoartrósico contiene mayor cantidad de agua, ésta difunde más fácilmente y la rehidratación del proteoglucano es más difícil y lenta. El cartílago se deshidrata y adelgaza bajo la compresión, perdiendo la capacidad amortiguadora. Así, HOSHINO y WALLACE [1987], en su estudio sobre la capacidad de la absorción de impacto de la rodilla humana concluyen que mientras en las rodillas normales se absorbe el 52% de la fuerza, en las artrósicas se absorbe sólo un 24%. Si la compresión es repetitiva el tejido se deforma en cada ciclo, agravándose el deterioro por fatiga de la red colágena [MAROUDAS y cols., 1986].

La pérdida de cartílago articular estimularía la formación de un tejido de reparación fibrocartilaginoso, que, en algunas ocasiones cubre parte de la superficie articular. Este tejido carece de la estructura, composición, propiedades mecánicas y durabilidad del cartílago articular normal, pero puede funcionar como una superficie articular [BUCKWALTER y MOW, 1992].

Las alteraciones del hueso subcondral, que acompañan a la degeneración del cartílago articular, incluyen el incremento de su densidad, la formación de cavidades del hueso (quistes) que contienen tejido mixoide, fibroso o cartilaginoso y la aparición de cartílago regenerado dentro y sobre la superficie ósea subcondral. El incremento de la densidad ósea, consecuencia de la formación de nuevas capas de hueso sobre las trabéculas existentes, es, generalmente, el primer signo de

enfermedad degenerativa articular en el hueso subcondral. Sin embargo, en algunas articulaciones los quistes subcondrales aparecen antes [BUCKWALTER y LANE, 1996]. En el estadio final de la enfermedad el cartílago articular desaparece por completo y en su lugar permanece un hueso subcondral denso y engrosado que se articula con otro de las mismas características.

II.2.6.- Ejercicio y cartilago articular.

El ejercicio regular, incluyendo deportes recreativos y competitivos, puede aumentar la salud general y posibilitar el incremento de la longevidad [PAFFENBARGER y cols., 1986; LANE y cols., 1987; HASKELL, 1988 BLAIR y cols., 1992; FRIES y cols., 1994]. Confiando en ello, cada día es mayor el número de individuos de edad media o mayores que deciden participar en deportes. Muchas de estas personas, que tienen articulaciones consideradas normales, quieren saber si participando en deportes o en programas de ejercicios aumenta su riesgo de desarrollar una enfermedad articular degenerativa, y la gente con enfermedad degenerativa temprana necesita saber qué tipos de actividad física podrían acelerar la progresión de sus enfermedades articulares y cuáles mantendrían y/o posibilitarían un incremento de su movilidad.

Las respuestas a estas cuestiones no están completamente claras. Los estudios sobre la relación entre el ejercicio y la artrosis sugieren que, al menos, algunos tipos de uso repetitivo de la articulación contribuyen al desarrollo de enfermedad articular degenerativa. El estudio de grupos de individuos con ocupaciones de demanda física, incluyendo granjeros, trabajadores de la construcción y del metal, mineros, y operadores de martillos hidráulicos (neumáticos), sugieren que la carga repetitiva intensa de las articulaciones podría conducir a un comienzo temprano de la degeneración articular [LANE y BUCKWALTER, 1993; BUCKWALTER y cols., 1995]. Entre las actividades laborales específicas que se han asociado con la artrosis, se incluyen el levantamiento o transporte repetitivo de objetos pesados, la postura inadecuada en el trabajo, la vibración, los movimientos repetidos continuamente, y el trabajo rápido determinado por una máquina [HELIOVAARA y cols., 1993]. Otros estudios han sugerido que la participación en deportes competitivos aumenta el riesgo de artrosis [LANE y BUCKWALTER, 1993; KUJALA y cols., 1994, 1995; BUCKWALTER y cols., 1995; VINGARD y cols., 1995]. En contraste con estos datos sobre la relación entre la actividad física vigorosa y la artrosis, otros estudios muestran que muchos individuos pueden participar en deportes durante toda su vida sin desarrollar artrosis clínicamente aparente [BUCKWALTER y cols., 1995; BUCKWALTER, 1995] y trabajos experimentales recientes muestran que el uso articular

regular durante la vida no conduce a desgaste de la superficie articular [NEWTON y cols., en prensa]. Por lo tanto, si la actividad física causa artrosis, lo hace por un mecanismo que no es otro que el movimiento articular repetitivo.

El mecanismo por el que los deportes podrían causar degeneración articular es el daño de la superficie articular debido a los impactos intensos o las fuerzas de torsión. Los cambios debidos a la edad, podrían incrementar la probabilidad del daño tisular y la disminución de la capacidad del tejido para repararlo. Los cambios debidos a la edad en la propiocepción articular, en los ligamentos, en las cápsulas articulares y en la función muscular también podrían contribuir a incrementar la probabilidad de lesionar el cartilago articular.

II.2.6.1.- Efectos de los impactos repentinos y las fuerzas de torsión sobre el cartilago articular

Los efectos de la aplicación lenta o rápida de cargas difieren considerablemente. La matriz extracelular del cartilago articular está formada por agua y un entramado constituido principalmente por colágeno y grandes agregados de proteoglicanos [BUCKWALTER y cols, 1990]. El colágeno proporciona al tejido su forma y su resistencia a la tensión; y la interacción de los agregados de proteoglicanos con el agua aportan resistencia a la compresión, elasticidad y, probablemente, durabilidad. La carga sobre la superficie articular causa movimiento del fluido dentro de la matriz del cartilago articular y distribuye de manera efectiva las cargas en el cartilago y hacia el hueso subcondral [MOW y ROSENWASSER, 1988].

Cuando esto ocurre lentamente, el movimiento del fluido permite al cartilago deformarse y disminuir la fuerza aplicada sobre el entramado macromolecular de la matriz. Si esto ocurriese demasiado rápido para permitir este movimiento del fluido y la consecuente deformación tisular, como sucede cuando se producen impactos repentinos o cargas de torsión en las articulaciones durante la actividad deportiva, el entramado macromolecular de la matriz soportaría una mayor proporción de la fuerza. Durante las competiciones deportivas se producen muy frecuentemente impactos y fuerzas de torsión de las articulaciones sinoviales, mientras que son mucho más escasos los golpes directos en las articulaciones. Los trabajos experimentales demuestran que los traumatismos directos, sean agudos o repetitivos, pueden dañar el cartilago sin causar una disrupción tisular visible [BUCKWALTER, 1992]. La compresión resultante y las fuerzas secantes aplicadas a una superficie articular pueden romper la matriz del cartilago produciendo fisuras condrales, colgajos o fracturas, y las cargas

de impacto transarticulares pueden provocar fracturas en la región de la zona de cartilago calcificado y del hueso subcondral coexistiendo con una superficie articular intacta [BUCKWALTER y cols., 1990a; THOMPSON y cols., 1991].

Además de las diferencias en los efectos sobre el cartilago articular, las cargas aplicadas lenta o rápidamente durante la participación en actividades físicas pueden diferenciarse en la cantidad de fuerza aplicada sobre la superficie articular. La contracción de los músculos puede llegar a proteger las superficies articulares ante los impactos y las fuerzas torsionales. Cuando las cargas se aplican lentamente, la contracción muscular puede absorber mucha energía mecánica y estabilizar las articulaciones. Cuando la carga se aplica repentinamente o de manera inesperada la rapidez de la contracción muscular no ocurriría con suficiente rapidez para estabilizar las articulaciones y disminuir las fuerzas sobre las superficies articulares [BUCKWALTER y LANE, 1996].

La disrupción del cartilago articular normal con un único impacto requiere una fuerza considerable. Un estudio sobre la respuesta del cartilago articular humano ante un trauma directo demostró que el cartilago articular podía soportar o resistir impactos o cargas de más de 25 N/mm² sin daño aparente. Las cargas que excedían este nivel causaban la muerte condrocitaria y fisuras en el cartilago [REPO y FINLAY, 1977]. Los autores sugirieron que para alcanzar un nivel de estrés capaz de dañar el cartilago articular se necesitaba una fuerza mayor que para fracturar el fémur. HAUT [1989] midió la presión sobre el cartilago articular patelofemoral de los humanos durante cargas de impacto y encontró que niveles o cargas menores que las necesarias para fracturar el hueso ya causaban un esfuerzo superior a 25 N/mm² en algunas regiones de la superficie articular. Con la rodilla flexionada 90°, el 50% de la carga necesaria para causar una fractura ósea producía presiones articulares superiores a 25 N/mm² en un área cercana al 20% de la superficie articular patelofemoral. Con un 70% de la carga de fractura ósea, cerca del 35% del área de contacto superaba presiones de 25 N/mm² y con un 100% de carga de fractura el 60% del área de contacto superaba presiones de 25 N/mm². Estos resultados demuestran que una carga de impacto puede romper el cartilago sin fracturar el hueso.

La carga de un impacto único podría ocasionar daño en la región del cartilago calcificado y del hueso subcondral con una disrupción mínima de la superficie articular [THOMPSON y cols., 1991; OEGEMA y THOMPSON, 1995]. Una carga transarticular de 2.170 N, aplicada en las articulaciones patelofemorales de perros, causó fracturas en la zona del cartilago calcificado visibles al microscopio óptico

[THOMPSON y cols., 1991]. Los exámenes histológicos mostraban fisuras del cartilago articular que se extendían desde la superficie articular hasta la zona de transición o la porción más superficial de la zona radiada. Seis meses después de los impactos, los exámenes histológicos y las tinciones histoquímicas demostraron una disminución en la concentración de PGs y fibrilación de la superficie articular en la región lesionada, sugiriendo que el daño de la zona calcificada del cartilago y del hueso subcondral, como resultado del impacto de la superficie articular podría contribuir al desarrollo de osteoartritis.

Otras investigaciones experimentales demuestran que las cargas producidas por impactos repetidos rompen la matriz del cartilago articular y provocan una degeneración progresiva del cartilago [WEIGHTMAN, 1976; DEKEL y WEISSMAN, 1978]. La aplicación de cargas cíclicas a muestras de cartilago humano *in vitro* causó fibrilación de la superficie [WEIGHTMAN, 1976] y la aplicación periódica de impactos sobre articulaciones metacarpofalángicas bovinas *in vitro*, combinada con movilización de la articulación, causó degeneración de la superficie articular [RADIN y PAUL, 1971]. La sobreutilización repetida de las articulaciones de los conejos *in vivo*, combinada con la aplicación de sobrecargas instantáneas, causó daño al cartilago, incluyendo la formación de grupos de condrocitos, fibrilación de la matriz, engrosamiento del hueso subcondral y penetración de capilares subcondrales en la zona calcificada del cartilago articular [DEKEL y WEIGHTMAN, 1978]. La extensión del daño cartilaginoso parecía incrementarse con la prolongación de los períodos de sobrecarga repetitivos, y el deterioro del cartilago continuaba después de cesar las sobrecargas. Este último hallazgo sugiere la existencia de algún daño en el cartilago que no es visible de manera inmediata.

Una investigación realizada con piezas de cartilago también demostró que las cargas repetitivas provocan una disrupción del tejido y que la severidad del daño aumenta con el incremento de la carga y el número de ciclos de aplicación de la misma [ZIMMERMAN y cols., 1988]. La aplicación de cargas de compresión a razón de 250 ciclos de 1.000 lb/in² originó abrasiones superficiales. Cuando se aplicaron 500 ciclos, se produjeron fisuras primarias que penetraban hasta el cartilago calcificado, y con 1.000 ciclos se producían fisuras secundarias que partían desde las fisuras primarias. Tras la aplicación de 8.000 ciclos las fisuras contactaban y provocaban fragmentos de cartilago. Estas experiencias sugieren que la carga repetitiva puede causar la propagación de fisuras verticales del cartilago desde la superficie articular hasta el cartilago calcificado y, a su vez, la extensión de fisuras oblicuas en áreas de cartilago intacto, lo que provoca la extensión del daño tisular y la aparición de colgajos de

cartilago y de fragmentos libres.

Los estudios clínicos han identificado fisuras, colgajos y fragmentos libres de cartilago articular, y cambios en el hueso subcondral similares a los que se producen experimentalmente por los impactos únicos o repetitivos de las cargas [BUCKWALTER, 1992]. Al menos en algunos pacientes, el impacto agudo de una carga sobre la superficie articular o los movimientos de torsión de la articulación causan aparentemente, este tipo de lesiones. En otros pacientes, el daño del cartilago podría ser el resultado de cargas repetitivas. En ocasiones, las imágenes de resonancia magnética de las articulaciones obtenidas inmediatamente después de la aplicación de una carga impactante aguda o de torsión, muestran cambios en el hueso subcondral acompañados de daño en la zona de unión del cartilago calcificado con el hueso subcondral, incluso cuando la superficie articular está intacta [VELLET y cols., 1991]. Muchos pacientes con osteoartritis no tienen un historial claro de agresión articular y, además, el diagnóstico de lesiones limitadas al cartilago articular o al hueso subcondral es difícil. Al carecer de inervación el cartilago, sus alteraciones no causan dolor de manera directa y la exploración física o los estudios radiográficos tradicionales no demuestran anomalías. Como resultado, la mayoría de estas lesiones permanecen sin detectar.

II.2.6.2.- Estudios experimentales de los efectos del ejercicio sobre las articulaciones

Los experimentos animales han proporcionado una información considerable sobre los efectos de la aplicación repetitiva de cargas en las articulaciones. Concretamente muestran que el aumento de uso y las cargas de impacto producen consecuencias distintas y que los efectos de este uso articular difieren entre las articulaciones normales y las articulaciones inestables y/o con una inervación sensitiva disminuida.

II.2.6.2.1.- Articulaciones normales

El ejercicio físico puede modificar diferentes parámetros del cartilago articular, en un sentido u otro, dependiendo de una serie de factores que luego se comentarán. Quizás, lo más llamativo de esta cuestión sea que el ejercicio puede beneficiar, perjudicar o, aparentemente, no afectar al cartilago articular.

Las consecuencias del ejercicio sobre las características estructurales del cartilago son contradictorias. Mientras en algunos casos se observa un aumento en la calidad del tejido, con la aparición de un menor número de lesiones en los

animales entrenados, en otros se constata todo lo contrario.

LANIER [1946] encontró que los ratones sometidos a carrera¹ presentaban menos lesiones de cartilago articular que los animales del grupo control.

Otros autores no encontraron modificaciones o alteraciones tras diferentes tipos de ejercicio, en distintas especies animales:

- Después de un ejercicio de carrera exhaustiva en ratones, KRAUSE [1969] no encontró cambios estructurales.
- SÄÄMÄNEN y cols. [1988] hicieron correr a conejos jóvenes² y no encontraron alteraciones en la superficie del cartilago.
- Cuando se trata de una carrera moderada (4 km/día, durante 15 semanas)³ la estructura histológica general del cartilago es similar a la de los animales del grupo control. La superficie del cartilago se encuentra intacta en toda su extensión [KIVIRANTA y cols., 1988].
- LAMMI y cols. [1993] no encontraron alteraciones estructurales en las cabezas femorales de perros sometidos a una carrera intensa⁴.

¹ Período de entrenamiento de 12,5 meses.

² Se trata de conejos jóvenes machos (New-Zealand blancos) de entre 4 y 6 meses de edad que corrían 2 veces al día y 5 veces a la semana una distancia de 300 metros (24 min por turno), durante 8 semanas. El entrenamiento se instauró de forma progresiva durante las 3 primeras semanas.

³ Los animales (perras jóvenes de la raza beagle) corrieron 1 hora diaria (4 km/día), 5 días por semana, durante 15 semanas sobre tapiz rodante con una inclinación de 15°. Previamente fueron sometidos a un proceso de adaptación progresiva de 10 semanas que comenzó cuando los perros contaban con 15 semanas de edad. Al final de la experiencia, no hubo diferencias significativas en el peso de los animales.

⁴ Los animales (10 perras beagle jóvenes con controles apareados por edad y peso) corrieron 40 km/día, con una velocidad de 6 km/h sobre tapiz rodante con una inclinación de 15°, 5 días a la semana y durante 15 semanas. Previamente fueron sometidos a un proceso de adaptación progresiva de 40 semanas que comenzó cuando los perros contaban con 15 semanas de edad.

- En perros jóvenes no se apreciaron signos de daño en el cartilago o alteraciones de la superficie tras un entrenamiento intenso⁵ (20 km/día) [KIVIRANTA y cols., 1992].
- Un estudio reciente examinó los efectos del ejercicio durante toda la vida en perros (beagles) [NEWTON y cols., en prensa]. La actividad consistía en una carrera moderada con lastre⁶. Los animales se dividieron en dos grupos, entrenados y controles. Al finalizar el estudio, las articulaciones sinoviales de los animales sometidos a régimen de ejercicio no presentaban diferencias macroscópicas ni microscópicas con las articulaciones de los animales control, y las pruebas mecánicas del cartilago articular tampoco mostraron diferencias.

Se podría concluir que el ejercicio moderado a lo largo de la vida, incluso con sobrepeso, no aumenta la probabilidad de degeneración articular.

En cambio, existen investigaciones cuyos resultados indican que el ejercicio provoca daño en la estructura histológica del cartilago:

- Aparecen rugosidades y apariencia fibrilar de la estructura en la superficie articular tras 25 días de carrera⁷ en cobayas [SÁÁF, 1950].
- Se encuentran alteraciones similares en ratas "bípedas" tras seis meses de carrera [MAEDA y cols., 1979].

⁵ Los animales (perras beagle jóvenes) corrieron 20 km/día, con velocidad de 6,1 km/h durante 15 semanas sobre tapiz rodante con una inclinación de 15°. Previamente fueron sometidos a un proceso de adaptación progresiva de 25 semanas que comenzó cuando los perros contaban con 15 semanas de edad. No encontraron diferencias en el peso final de los animales.

⁶ El ejercicio consistió en una carrera de 3 km/h durante 75 min, 5 días a la semana durante 527 semanas, con chalecos lastrados con una media 11,5 kg (lo que significa un 130% del peso animal adulto). Los controles permanecieron en jaulas durante el mismo período.

⁷ Los animales corrieron 1 km diario durante aproximadamente 3 meses.

- Degrada la integridad de la superficie articular del cartilago [STOFFT y GRAF⁸, 1983; VIDEMAN y ERONEN⁹, 1984].
- El cartilago de la cabeza femoral mostraba erosión, hoyos y fibrilación, tras un periodo de entrenamiento de 8 meses [VASAN, 1983]¹⁰. El estrés mecánico excesivo posiblemente rompía la red de colágeno, originando lesiones severas y progresivas del cartilago articular que no podrían ser reparadas.
- El ejercicio fisico moderado¹¹ (carrera de 600 m/día, durante 8 semanas) provoca la aparición inicial de irregularidades en la superficie del cartilago articular. [PAUKKONEN y cols., 1984a].
- La lisura del cartilago del conejo estaba ligeramente alterada entre una y dos semanas después de iniciar un ejercicio de carrera moderada¹² (150 m dos veces al día) [JURVELIN y cols., 1985].
- SÄÄMÄNEN y cols. [1988] en los estudios con microscopia óptica y electrónica encontraron que el cartilago presentaba de manera ligera y transitoria un incremento en el aspecto estriado de la superficie entre la primera y la segunda semana del programa de entrenamiento².

⁸ Utilizaron cobayas a los que sometieron a un esfuerzo mecánico fijo sobre tapiz rodante.

⁹ Utilizaron conejos sometidos a carrera en tapiz rodante durante periodos de 1, 5 y 30 días. Uno de los grupos corrió en horizontal y el otro en pendiente.

¹⁰ Entrenó a perros (beagle) jóvenes sobre un tapiz rodante con inclinación de 20° y una distancia entre 9,7 y 12,9 km durante una hora al día, y a lo largo de un periodo de 8 meses.

¹¹ Conejos jóvenes (2,5 a 5 meses de edad) sometidos a carrera de 600 m/día, 5 veces/semana, durante 8 semanas.

¹² Los animales eran conejos jóvenes, sometidos a una carrera sobre tapiz rodante de 150-300 m dos veces al día, durante 12-24 min por turno, cinco veces por semana y durante más de 8 semanas.

En opinión de PAUKKONEN y cols. [1984a], la estriación inicial de la superficie podría deberse a una deplección precoz de proteoglucanos, pero no de colágeno. Lo contrario, que esta estriación ligera y transitoria se debe a la preponderancia de las fibras de colágeno superficiales, es la conclusión de JURVELIN y cols. [1983] y SÄÄMÄNEN y cols. [1988].

En cualquier caso, convendría tener presente que se pueden producir cambios en las capas subyacentes del cartílago, esto es: cartílago calcificado y hueso subcondral incluso en presencia de una superficie intacta [STOUGARD, 1976; DEKEL y WEISSMAN, 1978; OETTMEIER y cols., 1989a y b].

Las variaciones del grosor del cartílago articular con el ejercicio han sido estudiadas por diferentes autores y sus resultados son heterogéneos. Como veremos, no existe uniformidad en el protocolo experimental de los distintos trabajos, lo que podría explicar las diferencias encontradas.

En la mayoría de los casos se produce un incremento en el grosor del cartílago:

- HOLMDAHL e INGELMARK [1948] lo comprobaron en conejos jóvenes sometidos a un ejercicio¹³ de carrera durante 8,5 meses.
- SÄÄF [1950] utilizó cobayas adultos jóvenes a los que hizo correr⁷ y encontró un incremento del grosor del cartílago no calcificado.
- Cuando se trata de una carrera moderada³ con perros, el grosor del cartílago articular no calcificado aumentaba en un 19% en el cóndilo lateral, un 23% en la superficie patelar del fémur y un 6% en la región central de la porción intermedia del cóndilo medial. En el resto del cartílago, el grosor se mantenía igual que en los controles, o sufría un incremento pequeño. El grosor del cartílago mineralizado no presentó alteraciones o variaciones en el grosor [KIVIRANTA y cols., 1988].

¹³ Ejercicio de carrera durante 8,5 meses.

- Una carrera agotadora con mayor volumen de carga y menor intensidad⁴ originó un incremento significativo en el grosor del cartílago articular, precisamente, en los lugares donde no se produjo disminución de GAG. En el caso de la superficie patelar del fémur afectaba a todas las zonas (mineralizadas o no). [AROKOSKI y cols., 1993].
- OETTMEIER y cols. [1992b] comprobaron, en perros sometidos a una carrera⁴ (de 40 km), que todas las regiones del cartílago articular, y tanto la porción mineralizada como la no mineralizada, sufrían un ligero aumento del grosor. El cambio más evidente se observó en las porciones lateral y medial de los cóndilos, aunque también estaba presente en la zona intermedia.

Se ha descrito que hay un correlación fuerte entre el grosor del cartílago calcificado y las cargas mecánicas de la articulación [SIMON, 1971 ; STOUGARD, 1976; LANE y BULLOUGH, 1980; KEIN-NULEND y cols., 1987]. Bajo condiciones normales el cartílago no calcificado y el calcificado son más delgados en las áreas que no soportan peso. Se puede observar un incremento del grosor del cartílago calcificado con el ejercicio⁴, especialmente en las regiones que en condiciones normales no están expuestas a grados elevados de carga mecánica [OETTMEIER y cols., 1992b].

HOLMDAHL e INGELMARK [1948] comprobaron que el aumento de grosor correspondía a un incremento de los componentes celular y extracelular. En opinión de KIVIRANTA y cols. [1992] los cartílagos de los animales jóvenes en crecimiento se adaptan más fácilmente a las condiciones de carga fisiológica alta que los de los animales adultos.

La disminución del grosor del cartílago tras ejercicio fue encontrada por:

- MAEDA y cols. [1979] en ratas "bípedas" sometidas a entrenamiento.
 - KIVIRANTA y cols. [1992] tras una carrera larga⁵, alcanzando una reducción del 6 % en el cartílago no mineralizado del cóndilo medial del fémur, concretamente, en la cúspide de
-

una sección frontal. No se apreciaron diferencias en el resto del cartilago no mineralizado, ni en lugar alguno del cartilago mineralizado.

- HELMINEN y cols. [1986] en perros y
- KEMPPINEN y cols. [1986] en cobayas adultos jóvenes.

La mayor parte de los estudios sobre el efecto del ejercicio intentan averiguar las repercusiones sobre la composición de la matriz extracelular y prestan menos atención a la cuantificación celular (*celularidad*) y a su distribución. Existe coincidencia en que el ejercicio moderado^{7,11} provoca un aumento del número de células en el cartilago no calcificado [SÄÄF, 1950], un leve aumento del tamaño celular [SÄÄF, 1950; PAUKKONEN y cols., 1984a] y un incremento del tamaño de los núcleos celulares en la zona superficial [PAUKKONEN y cols., 1985].

Al considerar los efectos del ejercicio sobre la **composición de la matriz extracelular**, volvemos a encontrar resultados diferentes. A excepción de LAMMI y cols. [1993], quienes no encontraron afectación ni en la síntesis ni en la concentración de PG en el cartilago de la cabeza femoral de perros sometidos a carreras de larga duración⁴, y de KINCAID y van SICKLE [1982], que no consiguieron inducir cambios en las vías metabólicas o en la síntesis de PG por los condrocitos en perros adultos a los que hicieron caminar durante 6 meses¹⁴, el resto de autores encontraron modificaciones.

En general, cuando se trata de un ejercicio leve o moderado, la concentración de PG en la matriz se incrementa:

- TAMMI y cols. [1983] detectaron el incremento de PG en las rodillas de conejos.
- PAUKKONEN y cols. [1984a] concluyeron que el ejercicio físico moderado¹¹ provoca un aumento ligero del contenido total de PG, con la aparición inicial de proteoglucanos ricos

¹⁴ Formaron dos grupos de perros Shepherd. A uno se le obligó a caminar sobre superficie plana durante 5 días / semana a lo largo de 6 meses. A otro se le hizo, además, caminar sobre plataformas interpuestas en su camino.

en queratán-sulfato.

- SÄÄMÄNEN y cols. [1988]² constataron alteraciones significativas en los PG, concretamente un ligero aumento en el contenido de condroitín sulfato.
- KIVIRANTA y cols., [1988] también encontraron un incremento en el contenido de PG en el cartilago articular de la rodilla de perros jóvenes³.
- El incremento de PG no afecta a la totalidad del cartilago, y presenta variaciones localizadas en las distintas zonas del cartilago y en las distintas regiones de la superficie articular:
- PAUKKONEN y cols. [1985] observaron un aumento de PG en la zona superficial del cartilago articular de conejos jóvenes.
- KIVIRANTA y cols. [1988]³ y SÄÄMÄNEN y cols. [1989]¹⁵ demostraron un aumento significativo del contenido de GAG en la porción central (en un corte frontal) del cartilago articular femoral de la rodilla de perros jóvenes. El aumento de GAG fue mayor en las zonas II, III y calcificada y no se apreciaba en la zona superficial. El contenido de Safranina O, indicativa de la cantidad total de GAG, se encontró aumentada un 28% en las áreas centrales de los cóndilos, más en el medial que en el lateral, y en la superficie patelar del fémur (41%). El aumento de GAG parece ser predominantemente debido al condroitín sulfato y estaba localizado en las zonas intermedia, profunda e incluso en la calcificada, mientras la zona superficial no mostraba cambios.

El leve aumento que se produce en el tamaño celular apoya la idea de que el ejercicio físico¹¹ es capaz de activar las células del cartilago para sintetizar moléculas matriciales [PAUKKONEN y cols., 1984a].

¹⁵ Perros jóvenes de la raza beagle corrieron durante 15 semanas, a razón de 4 km/día.

El aumento del movimiento articular y de la carga soportada por el cartílago, hasta cierto nivel, podría incrementar la síntesis de componentes matriciales por encima de la degradación, al menos en animales esqueléticamente inmaduros. Este incremento de PG, se asocia con una mejoría en las propiedades biomecánicas del cartílago: mayor dureza en estas áreas [JURVELIN y cols., 1986a].

En cambio otros trabajos indican que el ejercicio deprime el contenido de PG del cartílago:

- El descenso del contenido de GAG, tras ejercicio de carrera intenso, fue observada en ratones, en los que se produjo una disminución en la tinción de la matriz del cartilago articular con azul alcian y azul de metileno, aunque no se encontraron cambios estructurales [KRAUSE, 1969].
 - VASAN [1983] encontró que la carrera prolongada¹⁰ en perros disminuía la concentración de PG en el cartilago articular de la cabeza femoral, aún cuando la síntesis de PG estaba significativamente estimulada.
 - VIDEMAN y ERONEN, [1984] corroboran el mismo comportamiento en conejos entrenados sobre tapiz rodante⁹.
 - La disminución del contenido de GAG tras ejercicio intenso también fue demostrada en cobayas [KEMPPINEN y cols., 1986].
 - Una carrera larga⁵ (20 km/día) [KIVIRANTA y cols., 1992] provocaba una disminución del 11% en contenido en proteoglicanos, medido a través de la intensidad de la apetencia por la Safranina O, en los cóndilos femorales de perros.
 - Una carrera agotadora con mayor volumen de carga y menor intensidad⁴ (40km/día) originó una disminución de la concentración de proteoglicanos del cartilago [AROKOSKI y cols., 1993].
-

La respuesta del cartilago articular ante el ejercicio muestra variación topográfica y zonal [KIVIRANTA y cols., 1988, 1992; AROKOSKI y cols., 1993]:

- La reducción en la tinción con Safranina O descrita por KIVIRANTA y cols. [1988, 1992] era particularmente pronunciada (41 %) en las 50 μm superficiales del cartilago. El cartilago mineralizado presentaba una ligera disminución de la apetencia en las regiones centrales de los cóndilos femorales. En el resto de las superficies articulares no se encontraron diferencias con los controles. Disminuye significativamente el contenido de GAG en la zona superficial de la porción central (en un corte frontal) del cóndilo femoral. En opinión de los autores, los cambios demuestran que los cartilagos de los animales jóvenes en crecimiento se adaptan a las condiciones de carga fisiológica alta.
- Con una carrera de mayor distancia⁴ (40 km/día) [AROKOSKI y cols., 1993], disminuyó el contenido de GAG en la matriz del cartilago de la zona superficial de las áreas sometidas a carga. Esta reducción de GAG también se extendió a la zona intermedia e incluso a la profunda. Los mayores efectos se localizaban en las zonas centrales del cóndilo femoral, mientras que en los márgenes el contenido de GAG era similar al de los controles.

La pérdida de PG es más importante en la zona superficial del cartilago y, posiblemente, sea una consecuencia del incremento de carga, de manera que la rotura de PG no puede ser compensada por la neosíntesis de moléculas [KIVIRANTA y cols., 1992]. Esta pérdida de PG podría ser la lesión primaria que hace al cartilago más vulnerable ante los efectos posteriores de una carga mecánica pesada.

Los altos niveles de síntesis y renovación de PG se han encontrado como un reflejo de su catabolismo incrementado [SANDY y cols., 1984; CARNEY y cols., 1992]. A pesar de que la síntesis de PG está aumentada, por estimulación de la actividad condrocitaria, resulta insuficiente para mantener su concentración normal en la matriz extracelular [VASAN, 1983; AROKOSKI y cols., 1993].

Al ser la zona superficial la más afectada, la liberación de metaloproteinasas desde los condrocitos o desde el líquido sinovial, podría explicar la liberación de PG desde el tejido [VIGNON y cols., 1987; PELLETIER y cols., 1988]. En este sentido, la difusión de PG desde la matriz superficial del cartilago ocurriría más fácilmente que la difusión desde zonas más profundas. La pérdida de PG desde el tejido también podría estar incrementada por la ruptura de la red de colágeno del cartilago [DONOHUE, 1983; BROOM, 1986b]. Sin embargo, SÄÄMÄNEN y cols. [1986] observaron un cartilago articular aparentemente normal, lo que les lleva a proponer que el ejercicio en animales jóvenes en crecimiento afecta primariamente al metabolismo de los PG más que al colágeno.

TAMMI y cols. [1988] estudiaron el efecto de la carga sobre el metabolismo del colágeno del cartilago articular, no encontrando alteraciones debidas al ejercicio¹⁶. Tampoco encontraron modificaciones en la pata contralateral de perros a los que se entablillaba durante un periodo de 11 semanas. En cambio, en el cartilago de la cabeza femoral del miembro fijado, se encontró un aumento significativo en el metabolismo del colágeno que podría ser comparado al que se encuentra en la osteoartrosis experimental [EYRE y cols., 1980; VIDEMAN y cols., 1981]. Probablemente se trate de una consecuencia de la atrofia por desuso y una reacción del tejido debida a la disminución de la carga, más que a un proceso definitivamente patológico. Todos estos datos contrastarían con las variaciones en el contenido de PG con ejercicios similares.

Por el contrario, VASAN [1983] estima que el estrés mecánico excesivo¹⁰ probablemente rompa la red de colágeno, originando lesiones severas y progresivas del cartilago articular que no podrían ser reparadas.

El ejercicio intenso⁴ (40 km/día) estimuló la remodelación del hueso subcondral, produciéndose un efecto similar al del grosor del cartilago, posiblemente compensatorio, sobre la formación de osteoide en el hueso subcondral de la región patelofemoral [OETTMEIER y cols., 1992a].

¹⁶ Se utilizaron beagles cachorros hembras a los que se sometió a una carrera sobre tapiz rodante con 15° de inclinación, de 4 km/día con una velocidad de 1,1 m/s durante 5 días a la semana y durante un periodo de 23 semanas (8 semanas de acondicionamiento con incrementos progresivos y 15 semanas en las condiciones finales). Al final, los animales tenían 10 meses de edad y no presentaron diferencias en sus pesos con los control.

OETTMEIER y cols. [1992b] comprobaron en perros sometidos a una carrera de 40 km⁴, que el grosor de la plataforma ósea subcondral tendía a ser mayor en los corredores. Encontraron un incremento significativo en el volumen de hueso subcondral y en los parámetros de remodelación ósea que fueron más llamativos en las regiones lateral y medial del cóndilo. Se ha descrito que hay una correlación fuerte entre el grosor del cartilago calcificado y las cargas mecánicas de la articulación [SIMON, 1971; STOUARD, 1976; LANE y BULLOUGH, 1980; KEIN-NULEND y cols., 1987].

OETTMEIER y cols. [1992b] demostraron que debajo de una superficie articular intacta el cartilago articular y el hueso subcondral podrían hacerse más gruesos en respuesta a las cargas mecánicas. Es posible que este proceso no tenga lugar cuando han avanzado la esclerosis subcondral y el frente de mineralización, alterando o deteriorando las funciones mecánicas de los tejidos, lo que disminuye su capacidad para absorber impactos.

Todos estos cambios no suponen el desarrollo de enfermedad degenerativa articular [OETTMEIER y cols., 1992a; AROKOSKI y cols., 1993]. Las alteraciones en el cartilago articular y en el hueso subcondral podrían reflejar la adaptación de la articulación ante la movilidad y las cargas repetitivas y no significarían cambios degenerativos tempranos.

En lo que concierne a las propiedades biomecánicas del cartilago, los estudios con perros que corrieron 4 km/día durante 15 semanas, y en los que se producían aumentos significativos del grosor y del contenido de GAG del cartilago articular femoral de la rodilla [KIVIRANTA y cols., 1988; SÄÄMÄNEN y cols., 1989], demostraron una mejoría evidenciada por una mayor dureza del tejido [JURVELIN y cols., 1986a] y una mayor resistencia a la indentación [HELMINEN y cols., 1986; KIVIRANTA y cols., 1988, 1992].

Una carrera agotadora con mayor volumen de carga y menor intensidad (40 km/día) originó una disminución de la resistencia del cartilago a la indentación localizada en los mismos lugares que la deplección de PG [AROKOSKI y cols., 1990]. Esto podría indicar un deterioro en las propiedades biomecánicas del tejido.

Aunque 4 km diarios se pueden considerar un ejercicio ligero o moderado, exponen repetidamente ciertas áreas de la articulación de la rodilla a un incremento de carga. Desgraciadamente, no se tiene un conocimiento exacto de la distribución de cargas en la articulación de la rodilla de los perros. Los estudios experimentales

sobre articulaciones humanas [AHMED y cols., 1983; BROWN y SHAW, 1984] muestran que el compartimento patelofemoral y las porciones centrales de los cóndilos femorales son lugares particularmente sometidos a un esfuerzo aumentado durante los movimientos. Las fuerzas de tensión del músculo cuádriceps femoral crean cargas de compresión y cizallamiento entre la superficie troclear del fémur y la patela. Podríamos considerar que los mismos principios básicos son aplicables a la rodilla de los perros. En consecuencia, la superficie patelar del fémur y las zonas centrales de los cóndilos femorales serán probablemente los lugares que soportan mayor carga mecánica durante la carrera [AHMED y BURKE, 1983].

Las regiones centrales (en un corte frontal) de los cóndilos femorales se consideran las áreas de cargas de impacto más altas durante un ejercicio consistente en carrera, como se demuestra radiográficamente [KIVIRANTA y cols., 1988]. Éstas son las zonas que reaccionan negativamente al incremento de la carga. En ellas se produce una disminución del contenido de PG en la matriz [KIVIRANTA y cols., 1992] y un deterioro de la resistencia y la dureza [JURVELIN y cols., 1986]. Se puede decir que el ejercicio intenso provoca una inversión de los efectos beneficiosos derivados de un ejercicio moderado, que inducía un aumento en la concentración de PG y del grosor [KIVIRANTA y cols., 1988] y un incremento en la resistencia y dureza del cartílago [JURVELIN y cols., 1986]. Aunque no se observa daño en la integridad del cartílago (20 km/día) [KIVIRANTA y cols., 1992], la reducción de PG en la superficie podría preceder a la iniciación de fibrilación del cartílago, debido a que la deplección de PG conduce al reblandecimiento del cartílago articular y a un aumento de la absorción de energía durante la carga de la articulación. [LEE y cols., 1981; JURVELIN y cols., 1986]. Esto sugiere que la distribución desigual de la carga sobre la superficie articular ocasiona variaciones topográficas como respuesta del cartílago articular al incremento de la carga. Existiría, por tanto, un control local sobre el metabolismo condrocitario mediado por la carga [KIVIRANTA y cols., 1992].

El cartílago articular reduce el esfuerzo al incrementar la congruencia de las articulaciones [SIMON, 1971; BERNARD y cols., 1982]. Las superficies articulares normales no son completamente congruentes y eso motiva que en el momento de aplicar carga los contactos entre ellas tengan lugar en áreas limitadas [BULLOUGH y cols., 1968, 1973; BULLOUGH, 1989]. El engrosamiento de las áreas lateral y medial del cartílago del cóndilo y de la plataforma ósea subcondral, combinadas con la remodelación ósea acelerada, son mecanismos compensatorios y adaptativos para servir a la congruencia [OETTMEIER y cols., 1992b]. Las

reacciones del hueso subcondral en respuesta a la carga son generalizadas. En casi todas las localizaciones se encontró una remodelación ósea claramente acelerada, probablemente para proporcionar mayor cantidad de masa ósea subcondral. El diámetro de las trabéculas no varió, sin embargo, se habían formado nuevos puentes de hueso después de la carrera. Con microscopía óptica no se observó ninguna microfractura trabecular [OETTMEIER y cols., 1992b].

AROKOSKI y cols., [1993] y GIRÁLDEZ [1994] consideran muy probable que la cuantía y el tipo de cargas articulares difieren en las distintas áreas de la rodilla. Las regiones centrales de los cóndilos femorales y de la cabeza humeral soportan las cargas más pesadas [SCHERRER y cols., 1979; KIVIRANTA y cols., 1988]. Las áreas periféricas y marginales del fémur probablemente soporten cargas más ligeras que las regiones centrales de los cóndilos, incluso durante un incremento importante de cargas debidas a la carrera. Esto explicaría que el mayor efecto se observe principalmente en las regiones centrales. El compartimento patelofemoral está sujeto a fuerzas de tipo tangencial, mientras que las porciones centrales de los cóndilos femorales y tibiales estarán expuestas a impactos mayores y a fuerzas de mayor cuantía durante la carrera [AROKOSKI y cols., 1993]. Las fuerzas de cizallamiento durante una carrera de larga distancia, incluso asociadas con compresiones importantes, como ocurre en la articulación patelofemoral, parecen ser más beneficiosas que las de mayor intensidad de carga derivadas del soporte del peso [AROKOSKI y cols., 1993].

Un estudio reciente examinó los efectos del ejercicio durante toda la vida en perros (beagles) [NEWTON y cols., en prensa]. Al finalizar el estudio, las articulaciones sinoviales de los animales sometidos a régimen de ejercicio no presentaban diferencias macroscópicas ni microscópicas con las articulaciones de los animales control, y las pruebas mecánicas del cartílago articular tampoco mostraron diferencias. Esta investigación indica que el ejercicio moderado a lo largo de la vida, incluso con sobrepeso, no aumenta la probabilidad de degeneración articular.

La naturaleza y la cuantía de los efectos de las cargas sobre el cartílago articular dependerán de su magnitud, su tipo, su frecuencia y, por supuesto, de la velocidad de aplicación. Las cargas de impacto sobre las articulaciones normales producen resultados diferentes a los originados por el incremento del uso articular debido a la carrera. Las articulaciones sometidas a cargas impactantes y repetitivas en periodos limitados, sufren cambios degenerativos similares a los que se pueden ver en la osteoartritis de los humanos [RADIN y PAUL, 1971; LUKOSCHEK y cols., 1986;

RADIN y cols., 1978, 1984], lo que sugiere que los períodos cortos de cargas impactantes repetitivas causan degeneración articular con más probabilidad que una carrera a lo largo de la vida.

II.2.6.2.2.- Articulaciones anormales

Aunque el ejercicio moderado, aparentemente, no afecta de manera adversa a las articulaciones normales en los animales, podría acelerar la degeneración o incluso impedir la reparación de lesiones ya existentes del cartilago articular. En una investigación [PALMOSKI y BRANDT, 1981], la inmovilización de los miembros de los perros durante seis semanas incrementó el contenido de agua del cartilago y disminuyó el grosor, la síntesis de proteoglucanos y su agregación. La actividad *ad libitum* permitía una reversión lenta de estos cambios, mientras que una carrera de 6 millas/día, impedía la recuperación del defecto de agregación de proteoglucanos y disminuía todavía más el grosor del cartilago. Otros trabajos [PALMOSKI y BRANDT, 1982a; WILLIAMS y BRANDT, 1984a] mostraron que la actividad forzada después de lesionar el cartilago articular (digestión enzimática o sección del ligamento cruzado anterior) podía provocar la degeneración articular, mientras que la inmovilización tras las lesiones podría impedirla.

La inestabilidad articular crónica también podría influir en la respuesta de una articulación ante el ejercicio. Los modelos experimentales de degeneración articular muestran que una inestabilidad mecánica creada por la sección del ligamento cruzado anterior y meniscectomía puede conducir a una degeneración articular progresiva [MOSKOWITZ, 1992]. Estos estudios no han definido los mecanismos responsables de la degeneración de la superficie articular pero, posiblemente, los efectos adversos de la inestabilidad incluyen la alteración de la congruencia y de las regiones de contacto de las superficies articulares enfrentadas, el aumento en el número y la intensidad en los impactos de carga y el aumento de las fuerzas de cizallamiento y de compresión sobre algunas regiones del cartilago. De todos modos, la inestabilidad no causa necesariamente una erosión progresiva de la superficie articular, porque el tejido puede responder ante estos cambios mecánicos. En una serie de experimentos, la sección del ligamento cruzado anterior en perros aumentó la síntesis y la concentración de los proteoglucanos del cartilago [BRAUNSTEIN y cols., 1990]. El grosor del cartilago medido por resonancia magnética, tres años después de la cirugía, también estaba aumentado. Estos cambios podrían representar los estadios más tempranos de la osteoartritis, pero la experiencia clínica indica que en algunos pacientes las articulaciones inestables se vuelven más estables con el incremento en la edad de los pacientes y

que, incluso aunque algunas de estas articulaciones desarrollan osteofitos, no siempre desarrollan otros síntomas o signos de degeneración.

La inestabilidad articular combinada con una pérdida de inervación sensitiva puede incrementar dramáticamente la susceptibilidad de las articulaciones para degenerar con su uso. La denervación sensitiva mediante gangliotomía de la raíz dorsal no causa enfermedad degenerativa articular en perros estudiados durante 16 meses, pero, si se acompaña de sección del ligamento cruzado anterior, se provocan cambios degenerativos muy severos en las tres semanas siguientes a la sección del ligamento [O'CONNOR y cols., 1989]. La pérdida parcial de la inervación articular también acelera el desarrollo de enfermedad degenerativa articular en perros con sección de ligamento cruzado anterior [O'CONNOR y cols., 1992]. Estos estudios indican que la denervación sensitiva acelera el desarrollo de enfermedades degenerativas en articulaciones inestables y que desórdenes neurológicos o denervaciones articulares parciales, al mismo tiempo que la cirugía, podrían acelerar el desarrollo de la osteoartritis en humanos.

Los efectos de una aplicación temprana de cargas y de movimientos sobre un cartilago lesionado varían con el tipo de lesión [BUCKWALTER y cols., 1990b; BUCKWALTER, 1992]. Las diferencias en el tipo de daño tisular y en la respuesta reparadora permiten diferenciar tres tipos de lesiones agudas del cartilago:

- Pérdida o anomalías de las macromoléculas matriciales sin disrupción del tejido;
- Disrupción del cartilago sin lesión del hueso subcondral
- Disrupción del cartilago y del hueso subcondral

Los condrocitos pueden restablecer la pérdida de PG si el colágeno de la matriz permanece intacto y si existen suficientes condrocitos viables. En cambio, los condrocitos no pueden reparar disrupciones del tejido como fracturas condrales o laceraciones del cartilago. Inmediatamente después de la lesión cartilaginosa los condrocitos incrementan, durante poco tiempo, su actividad sintética y proliferativa, pero no migran al lugar de la lesión ni producen nuevas células o matriz que rellene el defecto. La disrupción del hueso subcondral y del cartilago provoca hemorragia e inicia la inflamación y la reparación con células procedentes del hueso y de los vasos sanguíneos. Se forma un coágulo de fibrina en el defecto. Las células mesenquimales

migran hacia el coágulo y producen la reparación del tejido que, generalmente, rellena el defecto en el hueso y la mayor parte del defecto del tejido. Las células de la porción condral en el defecto producen un tejido de reparación, que suele presentar una matriz con una composición intermedia entre el fibrocartilago y el cartilago articular [BUCKWALTER, 1992].

Las evidencias disponibles indican que un movimiento temprano y controlado impide la degeneración del cartilago como consecuencia de una lesión articular y podría facilitar su curación. Las observaciones de que la inmovilización y la descarga prolongadas de la articulación lesionan el cartilago articular, de que las cargas cíclicas incrementan la actividad sintética de los condrocitos y de que la reanudación del uso tras la inmovilización articular aumenta la composición del cartilago articular y sus propiedades mecánicas, sugiere que una carga y una movilización controladas podrían estimular la reparación de una lesión del cartilago cuando está limitada a una pérdida de PG matriciales. En este sentido, la movilidad activa y pasiva tras una deplección experimental de PG estimuló su restauración en la matriz [WILLIAMS y cols., 1994], pero no hay evidencia de que el uso de la articulación promueva la reparación de lesiones con disrupción del cartilago articular aunque no se dañe el hueso subcondral. La movilidad temprana durante las fases de reparación y remodelación en la curación de lesiones osteocondrales puede disminuir o impedir adhesiones y el deterioro provocado por la inmovilización en el cartilago no lesionado, y los estudios del tratamiento temprano con movilización pasiva sobre lesiones osteocondrales experimentales indican que esta movilización aumenta la calidad inicial del tejido de reparación del cartilago [SALTER y cols., 1980, 1982].

A pesar de que la carga y el movimiento son necesarios para mantener al cartilago articular, aplicadas prematuramente o en exceso podrían retrasar la curación o romper el tejido de reparación [AKESON y cols., 1969; PALMOSKI y BRANDT, 1982; WILLIAMS y BRANDT, 1984b; BUCKWALTER y cols., 1990].

En las lesiones con deplección de PG en la matriz, las cargas repetitivas e intensas sobre el cartilago (especialmente las cargas de impacto), aplicadas antes de que los condrocitos restablezcan el contenido normal de PG, podrían causar daños todavía mayores [BUCKWALTER y MOW, 1992]. WILLIAMS y BRANDT [1984b] provocaron lesiones químicas en las rodillas de cobayas y comprobaron que después de tres semanas de utilización activa y desenfrenada de la articulación aparecían fibrilación del cartilago y osteofitos. En cambio, la inmovilización durante el mismo tiempo impidió tanto la fibrilación como la formación de osteofitos. Hallazgos similares

obtuvieron PALMOSKY y BRANDT [1982], al demostrar que una carrera durante tres semanas después de inmovilizar prolongadamente las rodillas de perros, impedía la reversión de los cambios inducidos en los PG. La aplicación temprana de cargas y movilización podrían dañar el tejido de reparación que se forma en las lesiones osteocondrales. AKESON y cols. [1969] comprobaron que al proteger de cargas una superficie abrasionada, en las cabezas femorales de perros, se permitía la formación de un tejido de reparación del cartilago. Por el contrario, si se aplicaban cargas pesadas no aparecía tejido de reparación o era muy escaso.

II.2.6.3.- Estudios clínicos de los efectos del ejercicio sobre las articulaciones

Los estudios en humanos sobre la relación entre la osteoartrosis y el ejercicio son difíciles de realizar y de evaluar [BUCKWALTER y cols., 1995], porque existe gran variabilidad en la predisposición individual para desarrollar degeneración articular, en los patrones de ejercicios y en los traumatismos articulares. La susceptibilidad personal ante la degeneración articular varía, probablemente, debido a las diferencias en la forma de las articulaciones, en la congruencia, en la estabilidad y en la inervación, en la fuerza muscular, en la masa corporal, en la respuesta de sus tejidos ante el ejercicio y en la composición y metabolismo del cartilago articular, que están determinados genéticamente. La predisposición al desarrollo de la osteoartrosis podría ser distinta entre las personas que practican ejercicio de manera regular y quienes deciden no practicarlo. Por ejemplo, las personas que son más susceptibles al desarrollo de la degeneración articular podrían presentar síntomas articulares después de una actividad física mínima, lo que les llevaría a abandonar el ejercicio. En consecuencia, las personas que escogen practicar ejercicio de manera regular durante años serían aquéllos que presentan menos probabilidad de desarrollo de osteoartritis. Los distintos tipos de ejercicio difieren en las demandas sobre articulaciones específicas y la respuesta al ejercicio también sería distinta entre unas y otras articulaciones. Por ejemplo, un deporte o actividad recreativa que causa cambios degenerativos en la rodilla, podría no afectar al tobillo o a la cadera. Ciertos deportes y actividades recreativas incrementan el riesgo de lesiones articulares que pueden conducir a la degeneración articular. Estas lesiones no incluyen solamente fracturas, luxaciones, alteraciones meniscales o lesiones ligamentosas, sino también contusiones articulares. En este sentido las personas que realizan ejercicio regularmente y participan en determinados deportes podrían tener una prevalencia mayor de osteoartritis como consecuencia de una mayor frecuencia de lesiones cuando se comparan con personas de menor actividad física.

Son pocos los corredores de larga distancia (competitivos o recreacionales) que presentan lesiones articulares severas. Al mismo tiempo, estos corredores pueden recordar las distancias recorridas y la frecuencia con la que las realizan. Por ello, estos individuos proporcionan una de las mejores muestras para examinar la relación entre el ejercicio y la osteoartritis [LANE y BUCKWALTER, 1993; BUCKWALTER y cols., 1995]. A pesar de los problemas metodológicos para asignar aleatoriamente los individuos a los grupos de corredores y controles y las dificultades para realizar el diagnóstico de osteoartritis, estos estudios proporcionan un acercamiento a la relación entre el uso regular de las articulaciones y el desarrollo de degeneración articular en individuos activos.

En una investigación se compararon 41 corredores de larga distancia con 41 controles pareados [LANE y BUCKWALTER, 1993; LANE y cols., 1986, 1993]. Los corredores, con una edad media de 60 años y que habían corrido una media de 180 minutos a la semana durante 12 años, no tenían una prevalencia mayor de osteoartritis, aunque presentaban más densidad (40% mayor) en sus cuerpos vertebrales. Otro estudio comparó a 17 personas con una edad media de 56 años y que habían corrido una media de 45 km por semana durante 12 años con 18 controles no corredores [PANUSH y cols., 1986]. Los corredores no tuvieron más episodios de dolor o inflamación de caderas, rodillas, tobillos y pies que los no corredores, y los exámenes radiográficos de estas articulaciones tampoco mostraron diferencias. Las articulaciones de la cadera de 74 antiguos campeones corredores de distancia con una media de edad de 55 años y que habían competido durante una media de 21 años no presentaron más prevalencia de osteoartritis que los controles [PURANEN y cols., 1975]. Sin embargo otro estudio sobre corredores de larga distancia con una media de edad de 42 años mostró más evidencia radiográfica de enfermedad degenerativa en la cadera que los competidores de bobsleigh [MARTI y cols., 1989], y el aumento de la distancia recorrida se asoció con un incremento en los signos radiográficos de la degeneración articular.

Las evidencias clínicas demuestran que la carga de las articulaciones lesionadas podría causar alteraciones del cartilago significativas e incapacitantes [SOLOMONEN, 1966; FRANKEL y cols., 1971].

La prevalencia de osteofitos en las articulaciones es más alta en atletas que en un grupo control apareado [SOLOMONEN, 1966]. Se ha tratado de explicar que este fenómeno se debía a cambios que alteraban la progresión y no a alteraciones propias del cartilago [STULBERG y KELLER, 1984]. De acuerdo con la opinión mayoritaria,

el ejercicio de una articulación normal no produce cambios destructivos progresivos del cartilago articular [STULBERG y KELLER, 1984].

Los individuos que participan en deportes que someten a las articulaciones a impactos y cargas torsionales más intensas que la carrera, podrían tener una prevalencia aumentada de osteoartritis. Los practicantes de fútbol americano tienen una incidencia aumentada de cambios degenerativos en múltiples articulaciones, posiblemente debida a lesiones articulares [VINCELETTE y cols., 1972; RALL y cols., 1984; BUCKWALTER y cols., 1995]. RALL y cols. [1984] encontraron que más del 80% de los jugadores de fútbol americano con una historia de lesión de rodilla tenían evidencia de osteoartritis entre 10 y 30 años después de la competición. Los lanzadores de béisbol presentan un riesgo aumentado de osteoartritis del codo y del hombro [ADAMS, 1965; BENNET, 1941] y los jugadores de balompié una prevalencia mayor de osteoartritis en las articulaciones de su extremidad inferior cuando se comparan con los controles [LINDBERG y cols., 1993; KUJALA y cols., 1994, 1995].

Aunque la viabilidad de los estudios clínicos tienen limitaciones significativas, al combinarlos con los conocimientos actuales de los efectos de las cargas de torsión y de impacto sobre las articulaciones y los cambios del cartilago articular relacionados con la edad, es posible concluir que ciertos tipos de deporte pueden incrementar el riesgo de osteoartritis en los individuos de más edad.

En la tabla II.5 se agrupan los deportes y otras actividades físicas según la estimación de la intensidad y la cantidad de las cargas de impacto o torsionales que soporta la articulación. Es indudable que estos parámetros varían entre los individuos, aunque practiquen el mismo deporte debido a las diferencias en la técnica de ejecución, en el equipamiento (incluyendo superficies de competición) y con el nivel de competición.

Tabla II.5.-Diferencias entre deportes y otras actividades físicas según los niveles de carga e impacto articulares [BUCKWALTER y LANE, 1996].	
Nivel de impactos o cargas torsionales sobre las articulaciones	Ejemplos
Bajo	Natación recreativa, bicicleta, remo o esquí estático, golf, pasear, jardinería, etc.
Moderado	Bolos, vallas, ciclismo, remo, patinaje sobre hielo, escalada, dobles de tenis, danza-jazz y ballet, levantamiento de pesas, navegación, marcha, esquí de fondo y descenso, tenis de mesa, motociclismo, hípica, patinaje en línea, etc.
Alto	Béisbol, baloncesto, voleibol, fútbol, balonmano, carrera de fondo, squash, fútbol americano, rugby, tenis individual, esquí acuático, kárate, etc.

Existe una variedad de factores que puede incrementar el riesgo de degeneración articular con la práctica deportiva (tabla II.6), incluyendo las anomalías del cartílago articular determinadas genéticamente [FELSON, 1995; WILLIAMS y JIMÉNEZ, 1995].

Tabla II.6.- Factores que podrían incrementar el riesgo de degeneración articular con la práctica deportiva [BUCKWALTER y LANE, 1996]	
Cirugía o lesión articular previa	Inestabilidad articular
Debilidad muscular	Déficit neurológico (sensitivo o motor) Incremento de peso corporal
Incongruencia y/o displasia articulares	Anormalidades del cartílago articular determinadas genéticamente.

La inestabilidad articular o las alteraciones de la función mecánica, por pérdida de la función normal de ligamentos o meniscos, podría acelerar el desarrollo de cambios degenerativos con el ejercicio. Un estudio de 20 corredores de mediana edad con dolor de rodilla durante al menos tres meses sugirió que las anomalías articulares podrían estar relacionadas con el desarrollo de enfermedad degenerativa cuando se asocia con la carrera [McDERMOTT y FREYNE, 1983]. En este trabajo, se incluyeron 20 individuos con una edad media de 39 años y que habían corrido una media de 100 km a la semana durante 20 años, a los que se examinó clínica y radiológicamente. Seis de ellos tenían evidencias de enfermedad articular degenerativa. Los cambios radiográficos degenerativos estaban asociados con *genu varum*, una historia de lesión articular severa previa y más cantidad de años corriendo. Los estudios

de personas con lesiones de ligamentos y menisco indicaron que después de estas lesiones el riesgo de desarrollar cambios degenerativos se incrementaba [JACKSON, 1968; JOHNSON y cols., 1984; NEYRET y cols., 1993]. Otros factores que podrían aumentar el riesgo de degeneración incluyen la incongruencia articular causada por lesión o displasia articulares, debilidad muscular, deficiencias neurológicas e incremento de peso corporal [KOHATSU y SCHURMAN, 1990; KUJALA y cols., 1995; FELSON, 1995].

III.- Material y métodos

III.- Material y métodos

III.1.- Animales

Hemos utilizado 20 ratas machos SPRAGUE-DAWLEY, de 23 días de edad, con un peso medio de $110,42 \pm 5,42$ g y una longitud media de $14,54 \pm 0,33$ cm (medida desde la parte anterior del hocico hasta la base de la cola).

Las condiciones de vida, dieta, fotoperiodicidad y dimensiones del habitáculo fueron las mismas para todos los animales.

Inicialmente se estableció un breve período de familiarización de los animales con el medio y las condiciones del entrenamiento que consistió en lo siguiente:

1°.- El primer día se destinó a la familiarización de los animales con sus nuevos habitáculos y condiciones de vida.

2°.- Los dos días siguientes los animales corrieron sobre el tapiz rodante durante 3 y 5 minutos, respectivamente, a una velocidad de 20 m/min, en un plano horizontal y con una intensidad de descarga de 0,5 mA.

Recursos:

- Una jaula para el grupo control, otra para el entrenado, y una tercera necesaria antes de la distribución de los animales.
- Pienso IMPERZO-LETICA.
- Agua *ad libitum*.
- Una regla con precisión de mm.
- Una báscula dietética con precisión de 1g.
- Tapiz rodante de dos vías y dispositivo eléctrico de rechazo para mantener la carrera continua CT2 TREADMILL SYSTEM (Columbus Instrument, Columbus, Ohio, EEUU).

Distribución en grupos.

Para distribuir a los animales en los grupos control y entrenado, se llevó a cabo una prueba inicial que permitió descartar a los animales con una respuesta inadecuada al ejercicio. Se realizó cuando los animales contaban con 26 días de edad y consistió en un test de 20 minutos de carrera, sobre el tapiz rodante, a una velocidad de 20 m/min, en un plano horizontal y con una intensidad de descarga de 0,5 mA.

Durante la prueba se contabilizaron el número de caídas en la zona de descarga, y el tipo de respuesta del animal ante el dispositivo eléctrico de rechazo, considerando que respondía adecuadamente si volvía al tapiz y continuaba la carrera. A estos efectos no se tuvieron en cuenta los 5 primeros minutos del test.

De los 20 animales sometidos al test inicial se descartaron los 8 que manifestaron un mayor número de respuestas incorrectas. Los 12 animales restantes se emparejaron en función de sus características, procurando su similitud en:

- 1.- Peso.
- 2.- Longitud.
- 3.- Número de respuestas incorrectas.

Una vez seleccionadas las parejas, se realizó un muestreo aleatorio entre cada una, constituyéndose los definitivos grupos control y entrenado, compuestos cada uno de ellos por seis animales (figura III.1) y garantizando la homogeneidad inicial de la población en relación a las características de estudio.

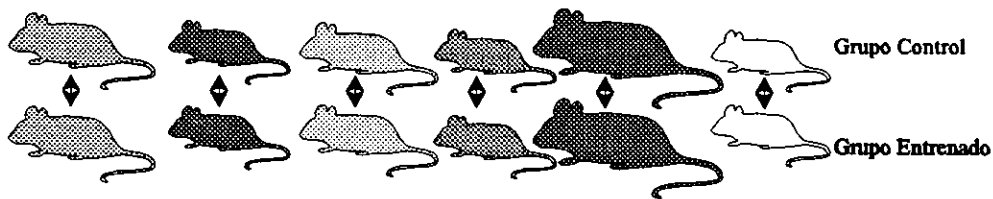


Figura III.1.- Distribución en grupos

III.2.- Entrenamiento

El entrenamiento consistió en una carrera continua sobre tapiz rodante, a una velocidad de 20 m/min, en un plano horizontal. Si los animales dejaban de correr caían sobre una placa metálica recibiendo un estímulo (descarga eléctrica de 1 mA de intensidad) para lograr su regreso al tapiz rodante. Los animales corrieron 5 días consecutivos por semana, en el horario de su fase activa (tras la puesta del sol).

El entrenamiento se instauró de manera progresiva:

- 1º.- El primer día los animales, con 30 días de edad, corrieron durante 20 minutos.

- 2°.- La duración de la carrera se incrementó 5 minutos cada dos días de entrenamiento hasta llegar a los 60 minutos por sesión.
- 3°.- A partir de este momento se mantuvo la duración de la carrera, hasta completar las 10 semanas de entrenamiento.

III.3.- Obtención y procesamiento de las muestras.

III.3.1.- Obtención del cartílago articular y del hueso subcondral.

Recursos:	
<input type="checkbox"/>	Instrumental quirúrgico.
<input type="checkbox"/>	Diazepán (Valium®, 10 mg/kg de peso).
<input type="checkbox"/>	Ketamina (Ketolar®, 50 mg/kg de peso).
<input type="checkbox"/>	Éter
<input type="checkbox"/>	Solución salina.

Finalizado el período de entrenamiento, y tras una semana de espera para evitar cualquier efecto agudo del ejercicio, se procedió a la obtención de las muestras. Para ello, las ratas se anestesiaron mediante la administración intramuscular de diazepam (Valium®, 10 mg/kg de peso) y ketamina (Ketolar®, 50 mg/kg de peso), utilizando éter por inhalación cuando fue necesario. Se mantuvieron vivas hasta que se hubo completado la extirpación del extremo

distal del fémur izquierdo, tras lo cual se sacrificaron con una sobredosis por inhalación de éter. Seguidamente, se aislaron los cóndilos internos y, mediante un corte sagital perpendicular a la superficie articular, se fragmentaron con una cuchilla en dos mitades, obteniéndose dos bloques de cartílago articular unido al hueso subcondral: un fragmento lateral y otro medial.

Desde el momento de la apertura de la articulación, y durante todo el tiempo de manipulación, las piezas se mantuvieron a baja temperatura mediante lavado con solución salina al 9‰ y a 4°C.

III.3.2.- Obtención del fémur.

Una vez sacrificados los animales, se procedió a la amputación del miembro posterior derecho para la extracción íntegra del fémur.

III.4.- Procesamiento para microscopía óptica.

Los fragmentos correspondientes a ambas mitades de los cóndilos internos se fijaron en formaldehído al 4% en tampón fosfato 0,07 M y pH 7,0 durante 48 horas a 4° C. Se descalcificaron con E.D.T.A. (Sigma) al 10% y formaldehído al 4 % en tampón fosfato 0,1 M, pH 7,4 y a 4 °C [KIVIRANTA y cols., 1984] durante al menos 20 semanas.

Una vez descalcificadas, las muestras se lavaron en el tampón correspondiente y se procedió a su deshidratación en soluciones alcohólicas de concentración creciente, aclaramiento en xilol e inclusión en Paraplast Plus Wax (MONOJECT Scientific Division of Sherwood Medical, Kildase, Ireland) [KIVIRANTA y cols., 1985].

Las secciones histológicas se realizaron en un microtomo de parafina (Microtomo Universal AS 500, Anglia Scientific, Cambridge, Inglaterra), con un espesor de 5 μ m y perpendiculares a la superficie articular. Sólo se utilizaron las porciones centrales, inmediatas al plano de corte, de cada uno de los bloques, con el fin de evitar la aparición de variaciones estructurales, morfológicas y bioquímicas de las porciones más periféricas, derivadas de sus diferentes condiciones biomecánicas [BULLOUGH y cols., 1985] y de la presencia de los lugares de transición entre el cartílago y la membrana sinovial. Se obtuvieron 10 portaobjetos de cada animal.

Las muestras se secaron durante una noche a 37°C y, una vez desparafinadas e hidratadas, se colorearon con Hematoxilina Férrica - Fast Green - Safranina O y con Hematoxilina Férrica - Escarlata de Biebrich - Azul de Picroanilina según LILLIE [1954].

Para poder establecer comparaciones idóneas en la intensidad de las apetencias tintoriales entre la preparaciones pertenecientes a los animales del grupo control y del grupo entrenado, las muestras de ambos grupos fueron emparejadas e incluidas en la misma canastilla para la realización de las tinciones.

III.4.1.- Tinción con Hematoxilina férrica-Fast green-Safranina O (HFS).

Elegimos este tipo de coloración para observar el contenido y disposición de los componentes matriciales, fundamentalmente las posibles variaciones en el contenido y disposición de los proteoglucanos. A lo largo del texto nos referiremos a esta tinción

con el acrónimo que incluye las iniciales de sus colorantes: "HFS" (Hematoxilina Férrica, Fast Green y Safranina O).

Preferimos esta técnica de tinción porque incluye la utilización de la Safranina O, colorante catiónico que, según ROSENBERG [1971] y KIVIRANTA y cols. [1985]:

- 1.- Se une a los proteoglicanos de forma ortocromática.
- 2.- Presenta un grado o intensidad de coloración que guarda una relación directa con la concentración de proteoglicanos en el tejido, pues se une a éstos de forma estequiométrica, y
- 3.- Es una tinción de realización sencilla, y en las secciones montadas de forma permanente la coloración permanece estable, conservándose la proporción entre el grado de coloración y el contenido de proteoglicanos tisulares, lo que facilita su reproducción.

La Safranina O no se une al colágeno, de manera que éste sólo se hace aparente mediante la utilización del Fast green en la contratinción. Finalmente, la Hematoxilina férrica de WEIGERT permite la visualización de los núcleos celulares y en cierto grado del citoplasma.

Las pautas de tinción fueron las siguientes:

- Hematoxilina férrica de WEIGERT: 6 minutos.
- Lavado en agua.
- Fast green 1/50.000: 3 minutos.
- Diferenciación en ácido acético 1%.
- Safranina O 0,1%: 6 minutos.
- Deshidratación en alcoholes de concentración creciente.
- Aclarado en xilol.
- Montaje en medio sintético (Entellán).

III.4.2.- Tinción con Hematoxilina férrica - Escarlata de Biebrich - Azul de picroanilina (HEA).

Utilizamos esta técnica, propuesta por LINCH y cols. [1972], para teñir las fibras del tejido conectivo, porque permite una visualización, a nuestro parecer excelente, del componente fibrilar de la matriz del cartilago. A lo largo del texto nos

referiremos a esta tinción con el acrónimo que incluye las iniciales de sus colorantes: "HEA" (Hematoxilina férrica, Escarlata de Biebrich y Azul de picroanilina).

Las fibras colágenas de pequeño calibre son nítidamente visibles en un azul intenso, mientras que los haces colágenos gruesos aparecen en un tono escarlata brillante. De esta manera, además de ser una técnica de tinción de realización sencilla, nos parece que complementa en gran manera a la anterior.

Las pautas de tinción fueron las siguientes:

- Hematoxilina de WEIGERT: 5 minutos.
- Lavado en agua..
- Escarlata de BIEBRICH 0,2% en ácido acético 1%: 4 minutos.
- Lavado en agua.
- Azul de picroanilina (azul de anilina 0,1% en solución saturada de ácido pícrico): 5 minutos.
- Diferenciación en ácido acético 1%.
- Deshidratado en acetona.
- Aclarado.
- Montaje con Entellán.

Finalmente, las preparaciones histológicas fueron estudiadas y fotografiadas en un microscopio de luz Microphot-Fx (Nikon).

III.5.- Organización y diseño de la obtención y tratamiento de los datos.

III.5.1.- Estudio del patrón normal de crecimiento de los animales y el efecto del ejercicio sobre el mismo.

Para cumplir el primer objetivo del presente trabajo ("*Obtener el patrón normal de crecimiento de las ratas y el efecto del ejercicio físico sobre el mismo*"), utilizamos cinco variables cuantitativas, que se estudiarán en torno a tres variables de agrupación: grupo, animal y temporalización.

III.5.1.1.- Variables de estudio.

Variables dependientes.

Considerando al entrenamiento como la variable independiente, utilizaremos cinco variables dependientes para determinar su comportamiento:

Nombre	Tipo	Unidad	Definición/Método de medida
Peso	Cuantitativa Continua Escala de razón	g	Peso en g de cada animal. Báscula de precisión 1 g.
Longitud	Cuantitativa Continua Escala de razón	cm	Longitud en cm de cada animal. Regla de precisión 1 mm.
Longitud ósea	Cuantitativa Continua Escala de razón	cm	Longitud del fémur derecho en cm. Regla de precisión 1 mm.
Comida	Cuantitativa Continua Escala de razón	g/día	Ingestión media de pienso en g/día. Báscula de precisión 1 g.
Bebida	Cuantitativa Continua Escala de razón	cm ³ /día	Ingestión media de agua en cm ³ /día. Probeta de precisión 1 cm ³ .

Variables de agrupación:

Para añadir información a las variables dependientes, es necesario establecer las siguientes variables de agrupación:

Nombre	Tipo	Etiqueta	Definición e identificación/medida
Animal	Nominal		Identificación del animal con un número. Escrito con rotulador indeleble en la piel del animal.
Grupo	Nominal Categorizada	Control Entrenado	Grupo al que pertenece cada animal. Grupo control: animales con los números del 1 al 6. Grupo entrenado: animales con los números del 7 al 12.
Temporalización	Nominal Categorizada	Antes Después	Datos obtenidos antes del inicio del proceso de entrenamiento. Datos obtenidos después de la finalización del proceso de entrenamiento.

III.5.1.2.- Metodología de trabajo.

Durante el periodo de entrenamiento se registraron el peso y la longitud de los animales, así como la ingestión sólida y líquida de los grupos. Se hizo siempre en ambos grupos, inmediatamente antes de someter a los animales del grupo entrenado a su tratamiento.

La longitud se midió evitando que el animal adoptara posiciones no rectilíneas, desde la punta del hocico hasta la base de la cola, utilizando como referencia la columna vertebral y su alineación con el cráneo.

Para el cálculo de la ingestión de comida se dispone el pienso, previamente pesado, en un recipiente al alcance de los animales. Antes de la reposición de comida se pesa la sobrante. La diferencia entre ambas es la comida ingerida por los animales de una jaula entre una reposición y la siguiente. La cantidad media diaria para cada animal, se obtiene dividiendo por el número de animales de la jaula y por el número de días que transcurre entre dos reposiciones.

Para el cálculo de la ingestión de agua se procede de manera similar. El agua (cuyo volumen se mide previamente) se deposita en un recipiente al alcance de los animales. Antes de reponerla se vuelve a medir el volumen de la sobrante, la diferencia entre ambas será el agua ingerida por los animales de una jaula entre una reposición y la siguiente. La cantidad media diaria para cada animal, se obtiene dividiendo por el número de animales de la jaula y por el número de días que transcurre entre dos reposiciones.

La relativización de las variables comida y bebida se hizo dividiendo sus valores medios por animal y día entre el peso medio diario de los animales, obteniendo de esta forma las variables dependientes comida relativa y bebida relativa.

Para determinar la longitud del fémur, las mediciones se realizaron apoyando la parte posterior del hueso sobre una regla, situando la cabeza del fémur sobre la marca del cero y observando desde una posición cenital y perpendicular a la regla el plano de corte de los cóndilos femorales sobre la misma.

III.5.1.3.- Diseño estadístico.

Una vez establecidas las variables de estudio, y realizadas las mediciones en los doce animales, interesa:

- 1°.- La presentación de tablas de medias y desviaciones típicas para las cinco variables consideradas.
- 2°.- La normalidad de la población, en relación a las variables *peso*, *longitud* y *tamaño óseo*. Para ello tomamos las mediciones de peso y longitud de los doce animales antes de comenzar el entrenamiento (n=12), asegurando que representan a poblaciones normales. Si tenemos en cuenta que las mediciones de tamaño óseo sólo pueden hacerse tras el sacrificio de los animales, comprendemos que para garantizar la normalidad sólo se utilicen los datos del grupo control al final de la experimentación. Usamos las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Kolmogorov-Smirnov-Lillefors (pruebas no paramétrica y paramétrica, respectivamente), y, en función de sus resultados, se realizan las transformaciones pertinentes.
- 3°.- La igualdad de varianzas entre las poblaciones determinadas por la variable entrenamiento. Para ello tomamos las mediciones de *peso* y *longitud* y *tamaño óseo* de los seis animales pertenecientes a cada grupo (n=6). Utilizamos el test de Levene y, en función de sus resultados, se realizan las transformaciones pertinentes.
- 4°.- Las diferencias dentro de cada grupo en relación a la variable de agrupación temporalización. Realizamos para ello un t-test para muestras apareadas a los seis animales de ambos grupos, antes y después del proceso de entrenamiento (n=6).
- 5°.- El estudio de las diferencias entre grupos control y entrenado, para lo que se realiza un análisis de la varianza con un factor (grupo) para el *peso* y la *longitud*, antes y después del proceso de entrenamiento y para el *tamaño óseo* después del proceso de entrenamiento.
- 6°.- La construcción de gráficas evolutivas para la *comida* y la *bebida* a lo largo de todo el periodo de entrenamiento, del grupo control y del entrenado.

III.5.2.- Estudio para la caracterización de las regiones del cartilago articular.

Para cumplir el segundo objetivo (“*Establecer una división del cartilago articular en regiones morfofuncionales distintas*”) trataremos con variables cualitativas que nos den información acerca de estas regiones.

III.5.2.1.- Variables de estudio.

Nombre	Tipo	Categorías	Definición y método de estudio
Radialización condrocitaria Cartilago no mineralizado	Cualitativa	<i>Presencia</i> <i>Ausencia</i>	Disposición de los condrocitos en columnas perpendiculares a la superficie. La radialización en la zona III es característica y, junto con el grosor relativo de la zona, indica la presencia de cargas de notable intensidad en el cartilago articular. Se estudia mediante observación de las muestra en el microscopio óptico.
Tidemark división entre zonas III-IV	Cualitativa	<i>Presencia</i> <i>Ausencia</i>	Frente de mineralización entre las zonas III (profunda) y IV (mineralizada) del cartilago articular. Se estudia mediante observación de las muestra en el microscopio óptico.
Cartilago epifisario bajo zona IV	Cualitativa	<i>Presencia o Ausencia</i> <i>Estratificación celular</i>	Tejido presente entre la zona mineralizada del cartilago y el hueso subcondral. Se estudia mediante observación de las muestra en el microscopio óptico.
Compartimento subcondral bajo cartilago epifisario	Cualitativa	<i>Interdigitaciones de la materia osteoide con el cartilago articular</i>	Interfase hueso-cartilago. Se estudia mediante observación de las muestra en el microscopio óptico.

III.5.2.2.- Metodología de trabajo.

Una vez realizados los estudios histológicos pertinentes, determinadas las regiones de estudio y descritos los atributos de las variables, intentaremos extraer patrones de comportamiento comunes a cada uno de los grupos y buscar diferencias entre grupos.

III.5.3.- Estudio de la longitud y la curvatura de la superficie articular.

Para cumplir el tercer objetivo (*"Estudiar la longitud y la curvatura de la superficie articular completa y de cada una de las regiones morfofuncionales del cartilago articular, así como el efecto del ejercicio sobre las mismas"*) se utilizarán las siguientes variables.

III.5.3.1.- Variables de estudio.

Las variables de estudio nos permitirán describir la normalidad del grupo control y cuantificar posteriormente sus diferencias con el grupo entrenado, región a región y globalmente.

Nombre	Tipo	Unidad	Definición y método de obtención
Arco por regiones	Continua	μm	Longitud del arco de la curva desarrollada por el perfil del cóndilo en cada una de las regiones morfofuncionalmente diferentes. Se obtiene a través de mediciones realizadas con el microscopio de cámara clara.
Cuerda por región	Continua	μm	Longitud de la cuerda del arco de la curva desarrollada por el perfil del cóndilo en cada una de las regiones morfofuncionalmente diferentes. Se obtiene a través de mediciones realizadas con el microscopio de cámara clara.
Arco total	Continua	μm	Longitud total del arco de la curva desarrollada por el perfil del cóndilo (su límite anterior es la región con características de cartilago articular situada distalmente a la ranura conditrotroclear; su límite posterior es la aparición del tejido sinovial). Se obtiene a través de mediciones realizadas con el microscopio de cámara clara.
Cuerda total	Continua	μm	Sumatorio de las 4 cuerdas de las regiones morfofuncionalmente diferentes que conforma, gráficamente, un polígono de cuerdas. Se obtiene a través de mediciones realizadas con el microscopio de cámara clara.
Cuello del cóndilo	Continua	μm	Mínima distancia entre los límites anterior y posterior del cartilago antes definidos. Se obtiene a través de mediciones realizadas con el microscopio de cámara clara.

III.5.3.2.- Metodología de trabajo.

El proceso de medición se realizará de la siguiente manera:

- 1º.- Inicialmente construimos una regla sobre papel. Para ello utilizamos un microscopio de cámara clara con un objetivo 10x y un porta micrometrado cuya regla tiene un paso de 0,01 mm y una longitud de 1 mm. Marcamos sobre el papel los límites de la regla original (la del porta micrometrado) y establecemos las divisiones mediante operaciones algebraicas. De esta manera se obtiene una regla a escala 141,7:1 de la original.

- 2°.- Con el mismo método se trazan el perímetro condileo y la unión osteocondral de todos los animales. Los 12 dibujos obtenidos del cartílago están en escala 141,7:1.
- 3°.- En los 12 dibujos se trazan las divisiones entre las regiones observando en las muestras histológicas las características diferenciadoras de aquéllas.
- 4°.- Para realizar las mediciones de las cuerdas en cada una de las regiones y el cuello del cóndilo completo sobre papel, utilizamos una regla convenciones de precisión 0,5 mm.
- 5°.- Los arcos se miden sobre los dibujos, utilizando un cartón flexible que a su vez se medirá con la regla convencional.
- 6°.- Finalmente se obtendrán las mediciones en micras por equivalencia entre la regla convencional y la construida sobre papel.

III.5.3.3.- Diseño estadístico.

Una vez establecidas las variables cuantitativas de estudio, y realizadas las mediciones en los doce animales, interesa conocer:

- 1°.- Las tablas de medias y desviaciones típicas para las variables de estudio.
- 2°.- La normalidad de la población, en relación a las variables *cuerda y arco por región* para los animales del grupo control. Utilizamos las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Kolmogorov-Smirnov-Lillefors (pruebas no paramétrica y paramétrica respectivamente), y, en función de sus resultados, se realizarán las transformaciones pertinentes.
- 3°.- La igualdad de varianzas entre las poblaciones determinadas por la variable *entrenamiento*, para lo que tomaremos las mediciones de *cuerda y arco por región* de los seis animales pertenecientes a cada uno de los dos grupos ($n=6$). Utilizamos el test de Levene y, en función de sus resultados, se realizarán las transformaciones pertinentes.
- 4°.- Para el estudio de las diferencias entre los grupos control y entrenado se realiza un análisis de la varianza con un factor (grupo).

III.5.4.- Estudio del grosor y la celularidad del cartílago articular.

Para cumplir parcialmente (aspecto cuantitativo) el cuarto de los objetivos del presente estudio ("*Establecer las características histológicas normales para cada una de las regiones morfofuncionales del cartílago articular (grosor, celularidad,...) y sus variaciones con el ejercicio físico*"), utilizaremos dos variables cuantitativas, que agruparemos en torno a variables de agrupación.

III.5.4.1.- Variables de estudio.

Variables cuantitativas.

Nombre	Tipo	Unidad	Definición y método de obtención
Grosor absoluto del cartilago articular	Continua	μm	Grosor medido en μm , perpendicularmente a la superficie articular, desde ésta hasta el hueso subcondral o, en su caso, hasta el cartilago epifisario. Se obtiene sobre dibujos del cóndilo realizados con el objetivo 40x.
Grosor relativo del cartilago articular	Continua	μm	Cociente obtenido por la división entre el grosor absoluto del cartilago articular y la longitud total del fémur correspondiente.
Celularidad del cartilago articular	Continua	μm	Número de células por $1.000 \mu\text{m}^2$. Se obtiene sobre dibujos del cóndilo realizados con el objetivo 40x.

Variables de agrupación

Nombre	Tipo	Etiqueta	Definición y obtención
Animal	Discreta	1- Animal 1 2- Animal 2 ... 12- Animal 12	Cada uno de los animales sometidos a estudio. Se asignan los números del 1 al 6 a los animales del grupo control. Se asignan los números del 7 al 12 a los animales del grupo entrenado.
Grupo	Discreta	Control Entrenado	Conjunto de animales con iguales condiciones de vida. Se agrupan en 6 animales control y 6 animales entrenados.
Región	Discreta	1- Región 1 2- Región 2 3- Región 3 4- Región 4	Cada una de las 4 regiones morfofuncionales diferentes del cartilago articular del cóndilo femoral. En cada uno de los 12 animales encontramos las 4 regiones de estudio.
Zona	Discreta	I-II III IV Cartilago epifisario.	Cada una de las capas o estratos en que se divide el cartilago articular de superficie a profundidad. En cada una de las 4 regiones pueden encontrarse las cuatro zonas o capas determinadas de superficie a profundidad de igual modo que en la etiqueta.

* Siendo difícil la diferenciación individual de cada una de estas capas, se observarán conjuntamente.

III.5.4.2.- Metodología de trabajo

El proceso de medición se realizará de la siguiente manera:

- 1°.- Inicialmente construimos una regla sobre papel. Para ello utilizamos un microscopio de cámara clara con un objetivo 40x y un porta micrometrado cuya regla tiene un paso de 0,01 mm y una longitud de 1 mm. Marcamos sobre el papel los límites de la regla original (la del porta micrometrado) y establecemos las divisiones mediante operaciones algebraicas. De esta manera se obtiene una regla a escala 687,5:1 de la original.
- 2°.- Con el mismo método se trazan el perímetro condíleo y la unión osteocondral de cada una de las regiones para todos los animales. Los dibujos obtenidos están en escala 687,5:1.
- 3°.- Dibujos por muestra:

Se analizan campos de las porciones anterior y posterior de cada una de las regiones 1, 2 y 3. En la región 4, debido a sus pequeñas dimensiones, se analiza un único campo. En la elección de los campos estudiados se eliminan las regiones de transición. De cada campo analizado se obtiene un dibujo.

Dibujos obtenidos en cada sección histológica

Región	Localización	Número de dibujos obtenidos
1	1 anterior y 1 posterior	2
2	1 anterior y 1 posterior	2
3	1 anterior y 1 posterior	2
4	1 de toda la región	1
Total por muestra		7

Dibujos por animal:

De los 10 portas obtenidos de cada animal se eligen 3 de forma aleatoria, escogiendo cuidadosamente el mejor corte en cada uno. Es decir, se estudian 3 cortes de cada animal y, por lo tanto, se obtendrán 21 dibujos de cada uno: 6 dibujos par cada una de las regiones 1, 2 y 3, mientras que en la región 4 sólo se obtienen 3.

Número de dibujos por muestra, animal y grupo

	Por muestra	Por animal (3 muestras)	Por grupo (6 animales)
Por región 1	2 (1 anterior y 1 posterior)	6	36
Por región 2	2 (1 anterior y 1 posterior)	6	36
Por región 3	2 (1 anterior y 1 posterior)	6	36
Por región 4	1 (región completa))	3	18
Total	7	21	126

4°.- Para la medición del grosor y de la celularidad se trazan sobre los dibujos cuadrículas de 250 μm de ancho (25 pasos del porta micrometrado) y 200 μm de altura (20 pasos del porta micrometrado).

La anchura es fija e inmutable para todos los dibujos, mientras que la altura es un simple valor de referencia que habrá de ajustarse al grosor (altura) de la muestra estudiada en cada caso.

5°.- Para calcular el grosor en cada uno de los dibujos resultantes se mide con la regla convencional la altura comprendida desde la superficie del cartilago articular hasta el hueso subcondral o, en su caso, el cartilago epifisario, sobre líneas verticales trazadas en la cuadrícula con una separación entre ellas de 50 μm .

Considerando que la cuadrícula tiene una anchura de 250 μm y que la medición del grosor se hace cada 50 μm , obtenemos cinco mediciones de grosor por cada cuadrícula o dibujo.

Número de mediciones del grosor por muestra, animal y grupo

	Por muestra		Por animal		Por grupo (n=8)	
	n° de dibujos	n° de medidas (5/dibujo)	n° de dibujos	n° de medidas (5/dibujo)	n° de dibujos	n° de medidas (5/dibujo)
Por región 1	2 1 anterior y 1 posterior	10	6	30	36	180
Por región 2	2 1 anterior y 1 posterior	10	6	30	36	180
Por región 3	2 1 anterior y 1 posterior	10	6	30	36	180
Por región 4	1 región completa	5	3	15	18	90
Total	7	35	21	105	126	630

6°.- Para determinar la celularidad se cuentan las células de cada cuadrícula y para conocer el área de tejido comprendida en esa cuadrícula se multiplicará el ancho fijo de 250 μm por el grosor medio de cada región en cada muestra. A continuación, se interpolará el número de células que correspondería a 1.000 μm^2 .

Número de mediciones de celularidad por muestra, animal y grupo

	Por muestra		Por animal		Por grupo (n=8)	
	n° de dibujos	n° de medidas (1/dibujo)	n° de dibujos	n° de medidas (1/dibujo)	n° de dibujos	n° de medidas (1/dibujo)
Por región 1	2 1 anterior y 1 posterior	2	6	6	36	36
Por región 2	2 1 anterior y 1 posterior	2	6	6	36	36
Por región 3	2 1 anterior y 1 posterior	2	6	6	36	36
Por región 4	1 región completa	1	3	3	18	18
Total	7	7	21	21	126	126

III.5.4.3.- Diseño estadístico

Una vez establecidas las variables de estudio, y realizadas las mediciones en los doce animales, interesa conocer:

- 1º.- Las tablas de medias y desviaciones típicas para las variables de estudio y las descripciones detalladas por grupo y región.
- 2º.- La normalidad de la población en relación a las variables *grosor* y *celularidad*. Para ello tomamos las mediciones en los seis animales del grupo control (n=6). Utilizamos las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Kolmogorov-Smirnov-Lillefors (pruebas no paramétrica y paramétrica respectivamente) y, en función de sus resultados, se realizarán las transformaciones pertinentes.
- 3º.- La igualdad de varianzas entre las poblaciones determinadas por la variable entrenamiento. Para ello tomamos las mediciones de *grosor* y *celularidad* de los seis animales pertenecientes a ambos grupos (n=6). Utilizamos el test de Levene y, en función de sus resultados, se realizarán las transformaciones pertinentes.
- 4º.- El comportamiento por separado de las cuatro regiones de estudio de los grupos control y entrenado. Se realiza mediante un análisis de la varianza con un factor (región) para las variables de estudio. En la comparación de los grupos realizaremos el mismo proceso para el factor (grupo) y para cada una de las regiones.

III.5.5.- Estudio cualitativo del cartílago articular, del cartílago epifisario y del compartimento subcondral.

Para cumplir parcialmente (aspecto cualitativo) el cuarto de los objetivos del presente estudio (*“Establecer las características histológicas normales para cada una de las regiones morfofuncionales del cartílago articular (...), definición zonal, características estructurales y apetencias tintoriales) y sus variaciones con el ejercicio físico”*), así como el quinto de los objetivos (*“Estudiar las características histológicas normales del tejido cartilaginoso epifisario (agrupamiento celular, estratificación y apetencias tintoriales) y hueso subcondral (organización trabecular, presencia de tejido osteoide e interdigitaciones osteocondrales) en cada una de las regiones morfofuncionales del cartílago articular y su variación con el ejercicio físico”*) utilizaremos las mismas variables de agrupación que en el estudio cuantitativo y realizaremos una descripción detallada de lo observado mediante el siguiente protocolo:

III.5.5.1.- Variables de estudio

En el cartilago articular:

Definición zonal. Bajo este epigrafe estudiamos la existencia, organización y proporciones de los distintos estratos del cartilago articular, del tejido epifisario y del compartimento subcondral.

Estudiaremos las zonas I, II, III, correspondientes al cartilago no calcificado y zona IV, constituida por cartilago calcificado, para lo que nos basamos en la morfología y la distribución celulares. La presencia o ausencia del tidemark, determinará la existencia o no de la zona IV.

Nombre	Niveles	Subniveles
Definición zonal del cartilago articular	Existencia	<i>Presencia</i> <i>Ausencia</i>
	Organización	<i>Normal</i> <i>Anormal</i>
	Proporción	<i>Normal</i> <i>Anormal</i>

Características estructurales.- Aquí valoramos si el cartilago presenta o no irregularidades superficiales y grietas, con su localización, dirección y grado de profundidad (zonas de transición, radial o calcificada), así como el aspecto y la distribución generales de los componentes celular y matricial, valorando si existe o no desorganización estructural del tejido que, de existir puede ser parcial y localizada o extensa.

Nombre	Niveles	Subniveles
Características estructurales	Regularidad superficial	<i>Presente (superficie lisa)</i> <i>Ausente (superficie irregular)</i>
	Integridad estructural	<i>Presente (continuidad)</i> <i>Ausente (grietas)</i>
	Aspecto y distribución generales de los componentes celular y matricial	<i>Conservado</i> <i>Desorganización localizada</i> <i>Desorganización extensa</i>

Apetencias tintoriales de la matriz para los distintos colorantes (básicamente, Safranina O, Fast Green, Escarlata de Biebrich y Azul de Picroanilina). En este apartado se hace referencia a su intensidad y al patrón de distribución de la coloración de la matriz, calificándola como redistribuida cuando es atípica.

Nombre	Niveles	Subniveles
Apetencias tintoriales	Intensidad	<i>Normal</i> <i>Aumentada</i> <i>Disminuida</i>
	Distribución	<i>Normal</i> <i>Redistribuida</i>

En el tejido epifisario:

Estudiaremos el grado de aislamiento o agrupamiento celular y su estratificación o distribución en capas.

Nombre	Niveles	Subniveles
Características estructurales del tejido epifisario	Agrupamiento celular	<i>Presente</i> <i>Ausente</i>
	Estratificación	<i>Presente</i> <i>Ausente</i>

Además, se estudian las apetencias tintoriales, siguiendo los mismos criterios que en el cartilago articular.

En el compartimento subcondral:

Nos interesa conocer la organización trabecular, esto es, la orientación y grado de complejidad de su distribución espacial. Además analizaremos la proporción y distribución del tejido osteoide en las trabéculas y la interdigitación entre el hueso subcondral y el tejido suprayacente.

Nombre	Niveles	Subniveles
Características histológicas del compartimento subcondral	Organización trabecular	<i>Orientación</i> <i>Grado de complejidad</i>
	Presencia de tejido osteoide	<i>Proporción</i> <i>Distribución</i>
	Interdigitaciones	<i>Grado</i>

III.5.5.2.- Metodología de trabajo

Comenzamos estudiando las muestras correspondientes a los animales del grupo control para establecer las características que pueden considerarse normales para todas y cada una de las variables. En este estudio y para la mayor parte de las variables analizadas, se tratará de tomar como referencia a la región de mayor carga y comparar con ella a las demás.

Posteriormente se aborda el estudio de las muestras correspondientes a los animales del grupo entrenado. Para poder calificar los hallazgos obtenidos se hace necesario compararlos con los datos de normalidad obtenidos previamente en el grupo control. Para las comparaciones intragrupo sigue tomándose como referencia la región de máxima carga.

IV.- Resultados

IV.- Resultados.

IV.1.- Estudio del patrón de crecimiento. (material y métodos, pg. 160)

IV.1.1.- Variables de estudio

Variables de estudio	Estudios realizados:
Peso en g de los animales. Longitud en cm de los animales.	Peso y longitud de los animales, antes y después del período de entrenamiento y comparación entre grupos. Estudio evolutivo por grupos del peso y la longitud.
Comida en g por animal y día. Bebida en cm ³ por animal y día.	Comida y bebida por grupo y comparación entre grupos. Estudio evolutivo por grupos de la ingestión sólida y líquida.
Longitud del fémur en mm.	Longitudes de los fémures por grupo y comparación entre grupos.

IV.1.2.- Estudio por grupos

IV.1.2.1.- Grupo control

El *peso* medio inicial de los animales fue de $111,67 \pm 4,08$ g, alcanzando $477,50 \pm 43,33$ g al finalizar la experiencia. La *longitud* de los animales también aumentó durante este tiempo, desde $14,45 \pm 0,35$ cm al principio, hasta $26,10 \pm 0,60$ cm al final (tabla y figura IV.1.1).

Tabla IV.1.1.- Estudio general de la longitud y el peso: grupo control.

	Tratamiento	Media \pm σ
Peso (g)	Antes	$111,67 \pm 4,08$
	Después	$477,50 \pm 43,33$
Longitud (cm)	Antes	$14,45 \pm 0,35$
	Después	$26,10 \pm 0,60$

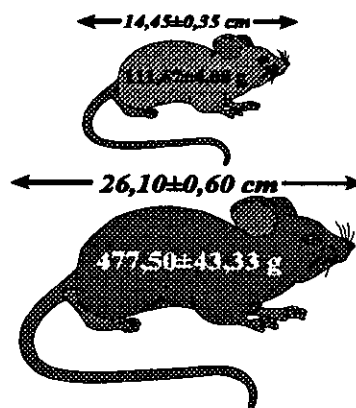


Figura IV.1.1.- Estudio general de la longitud y peso: Grupo control

La normalidad de las variables *peso* y *longitud* se garantiza con el test de Kolmogorov-Smirnov (variante Lilliefors) antes de iniciar el proceso de entre-

namiento, obteniendo para las variables *logaritmo neperiano del peso y de la longitud* un K-S Lillefors con $p > 0,200$ y un $\alpha = 0,05$, en ambos casos.

La igualdad de varianzas se determina, para un $\alpha = 0,05$, mediante el test de Levene aplicado sobre las mismas variables transformadas, obteniendo los p valores de 0,545 para el *peso* y 0,786 para la *longitud*.

Realizado un t-test para muestras apareadas (antes y después de finalizada la experimentación) obtenemos significaciones, tanto en el peso como en la longitud ($p < 0,00$).

Los animales *comieron* diariamente una cantidad de $27,29 \pm 2,51$ g de pienso y bebieron $29,08 \pm 2,66$ cm³ de agua.

La longitud media de los *fémures* pertenecientes a los animales del grupo control fue $38,45 \pm 1,03$ mm.

IV.1.2.2.- Grupo Entrenado

El *peso* medio inicial de los animales fue de $109,17 \pm 6,65$ g, alcanzando $418,33 \pm 41,31$ g al finalizar la experiencia. La *longitud* de los animales también aumentó durante este tiempo, desde $14,63 \pm 0,31$ cm al principio, hasta $25,25 \pm 0,67$ cm al final (tabla y figura IV.1.2).

Tabla IV.1.2.- Estudio general de la longitud y el peso: grupo entrenado.

	Tratamiento	Media \pm σ
Peso (g)	Antes	$109,17 \pm 6,65$
	Después	$418,33 \pm 41,31$
Longitud (cm)	Antes	$14,63 \pm 0,31$
	Después	$25,25 \pm 0,67$

La normalidad de las variables *peso* y *longitud* se garantiza con el test de Kolmogorov-Smirnov (variante Lillefors) después de finalizar el proceso de entrenamiento, obteniendo para las va-



Figura IV.1.2.- Estudio general de la longitud y peso: Grupo entrenado

riables *logaritmo neperiano del peso y de la longitud* un K-S Lillefors con $p > 0,200$ y un $\alpha = 0,05$, en ambos casos.

La igualdad de varianzas queda garantizada, para un $\alpha = 0,05$, mediante el test de Levene aplicado sobre las mismas variables transformadas, obteniendo los p valores de 0,650 para el *peso* y 0,293 para la *longitud*.

Realizado un t-test para muestras apareadas (antes y después de finalizada la experimentación) obtenemos significaciones, tanto en el *peso* como en la *longitud* ($p < 0,00$).

Los animales *comieron* diariamente una cantidad de $24,79 \pm 1,93$ g de pienso y *bebieron* $26,37 \pm 1,79$ cm³ de agua.

La longitud media de los *fémures* pertenecientes a los animales del grupo entrenado fue $37,23 \pm 0,44$ mm.

IV.1.2.3.- Diferencias entre el grupo control y el grupo entrenado

Antes de iniciar el proceso de entrenamiento

Garantizamos la normalidad para todos los animales en relación a las variables *peso y longitud*, con $\alpha = 0,05$, mediante el test de Kolmogorov-Smirnov en variante de Lillefors, obteniendo para las variables transformadas *logaritmo neperiano del peso y de la longitud* un K-S Lillefors con $p > 0,200$.

La igualdad de varianzas para un $\alpha = 0,05$ se garantiza mediante una prueba de estabilización (test de Levene) sobre las mismas variables transformadas, resultando los p valores de 0,545 para el *peso* y 0,786 para la *longitud*.

Se realiza un análisis de la varianza, con un factor (grupo), para el *peso* y la *longitud*, obteniendo que los p -valores asociados al estadístico F toman los valores de 0,434 y 0,357, mayores que $\alpha = 0,05$, por lo que se aceptará la hipótesis nula que supone iguales a los dos grupos definidos por la variable.

Se realiza, además, un t-test para muestras independientes de *longitud* y de *peso*, sin obtenerse diferencias significativas, lo que en principio resulta lógico, puesto que todos los animales pertenecen a la misma población.

Finalizado el proceso de entrenamiento

Garantizamos la normalidad para los animales no entrenados en relación a las variables *peso* y *longitud*, con $\alpha = 0,05$, mediante el test de Kolmogorov-Smirnov en variante de Lillefors, obteniendo para las variables transformadas *logaritmo neperiano del peso* y *de la longitud* un K-S Lillefors con $p > 0,200$.

La igualdad de varianzas para un $\alpha = 0,05$ se garantiza mediante una prueba de estabilización (test de Levene) sobre las mismas variables transformadas, obteniéndose los p valores de 0,650 para el *peso* y 0,293 para la *longitud*.

Se realiza un análisis de la varianza con un factor (grupo), para el *peso* y la *longitud*, resultando que los p -valores asociados al estadístico F toman los valores de 0,036 para el *peso* y 0,043 para la *longitud*, menores que $\alpha = 0,05$, por lo que se rechazará la hipótesis nula que supone iguales a los dos niveles definidos por la variable grupo. Así pues, el *peso* y la *longitud* son mayores en el grupo control que en el entrenado.

Realizadas las mismas pruebas (t-test para muestras independientes) para la longitud y el peso, obtenemos diferencias significativas (figura IV.1.3.)

Mayor longitud en el grupo control $p < 0,043$.

Mayor peso en el grupo control $p < 0,036$.

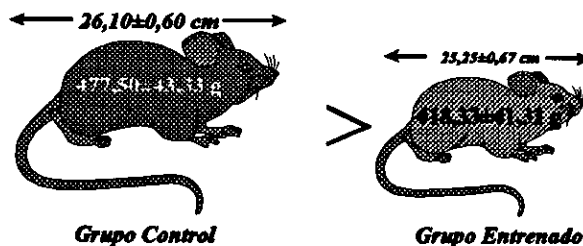


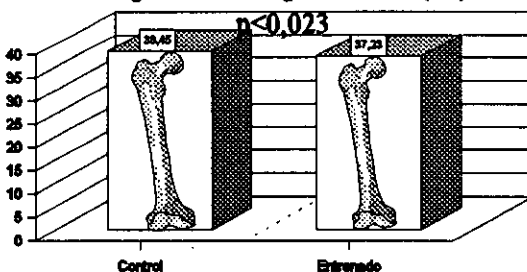
Figura IV.1.3.- Diferencias entre grupos control y entrenado

La cantidad de *comida* ingerida por los animales del grupo control ($27,29 \pm 2,51$ g) es significativamente mayor ($p < 0,0001$) que la ingerida por los entrenados ($24,78 \pm 1,93$ g). El volumen de *agua* bebido por los animales del grupo control ($29,08$

$\pm 2,66 \text{ cm}^3$) también es significativamente mayor ($p < 0,0000$) que el bebido por los entrenados ($26,37 \pm 1,79$).

Para conocer las diferencias por grupo de las *longitudes* de los fémures, se garantiza la normalidad de la muestra con el test de Kolgomorov-Smirnov, obteniendo un p valor de 0,406. La igualdad de varianzas se controla mediante la prueba de Levene, obteniendo un valor de 0,131 con lo que se supone la homoscedasticidad.

Figura IV.1.4.- Longitud del fémur (mm)



Realizando un análisis de la varianza con un factor (grupo) se obtiene que la *longitud del fémur* del grupo control es significativamente superior a la del grupo entrenado ($p < 0,0235$) (figura IV.1.4).

IV.1.3.4.- Estudio longitudinal del peso (g), la longitud (cm), la comida (g) y la bebida (cm^3).

Se representan 30 mediciones tomadas entre los días 4 y 70, se realiza un estudio del peso (fig IV.1.5), de la longitud (fig IV.1.6), de la comida (fig. IV.1.7) y de la bebida (fig. IV.1.8) así como estudios de la comida y la bebida, en relación con el peso de los animales (figs. IV.1.9 y 10, respectivamente).

Fig. IV.1.5.- Estudio longitudinal del peso (g)

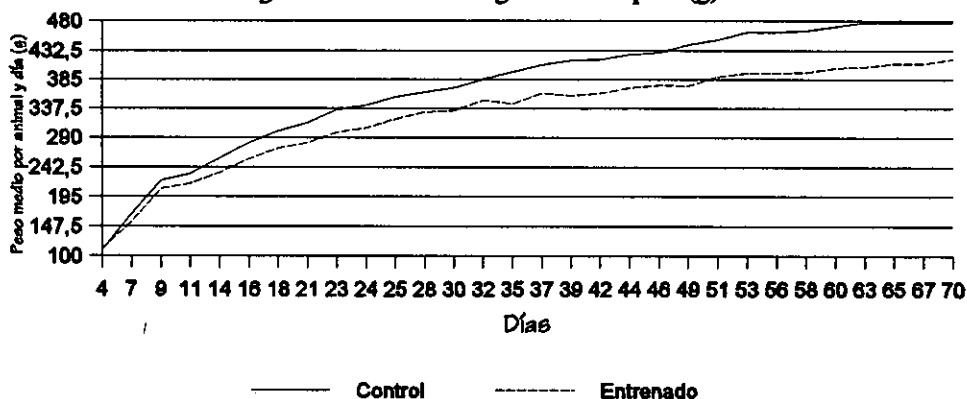


Fig. IV.1.6.- Estudio longitudinal de la longitud (cm)

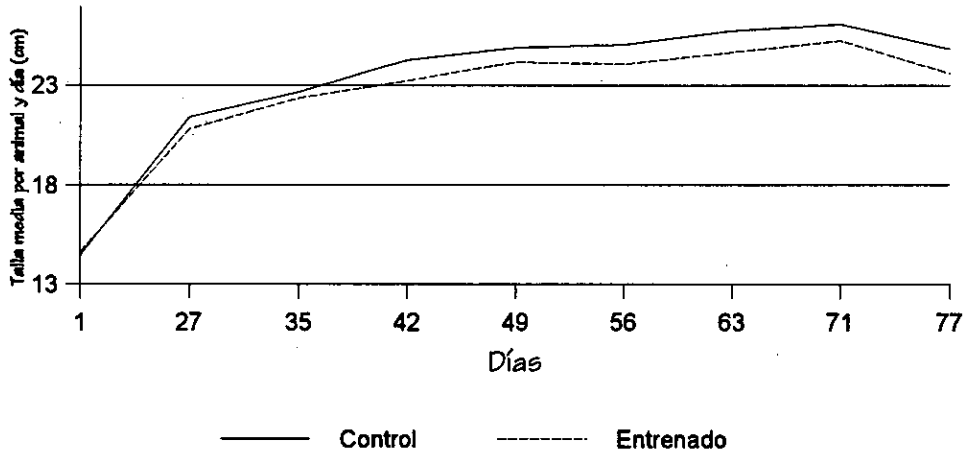


Fig. IV.1.7.- Estudio longitudinal de la comida (g)

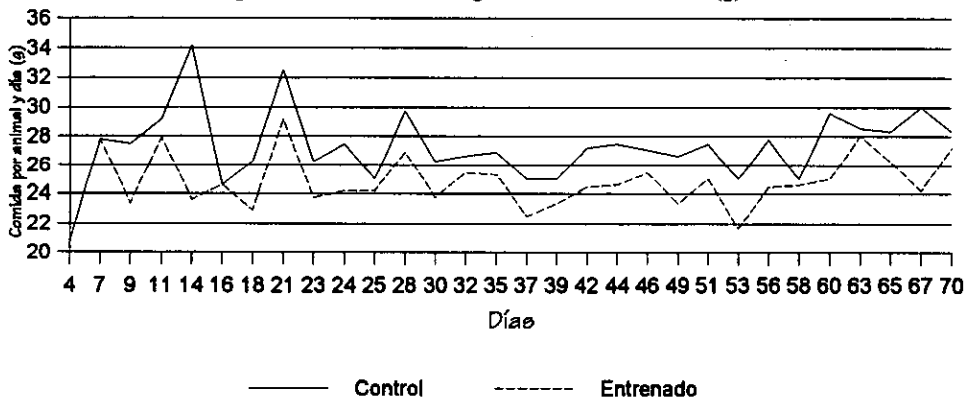
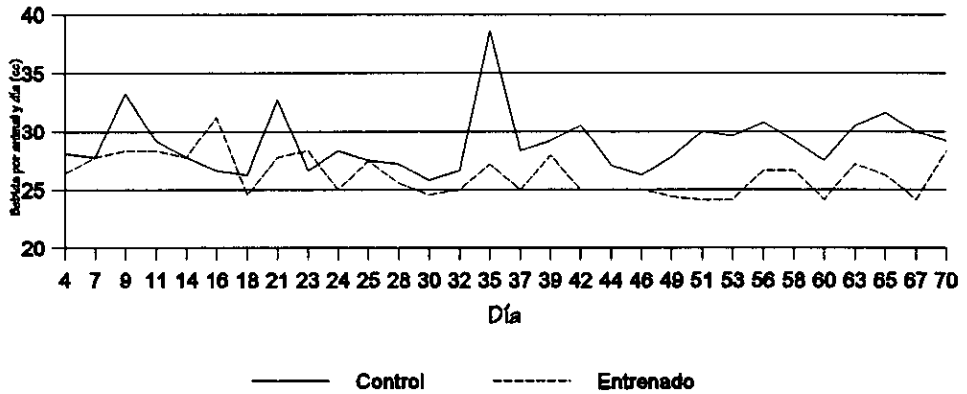


Fig. IV.1.8.- Estudio longitudinal de la bebida (cc)



En lo que se refiere a los valores relativos, analizamos las dos distribuciones generadas por la variable grupo, para la comida y la bebida relativizados con el peso del animal. Para conocer si la evolución es distinta en los animales controles y entrenados aplicamos la prueba de Kolmogorov-Smirnov para dos muestras, obteniendo los p-valores de 0,236 para la comida relativa y 0,945 para la bebida relativa, por lo que no podemos establecer diferencias entre las distribuciones grupales, tanto para la

Fig. IV.1.9.- Estudio longitudinal relativizado de la comida

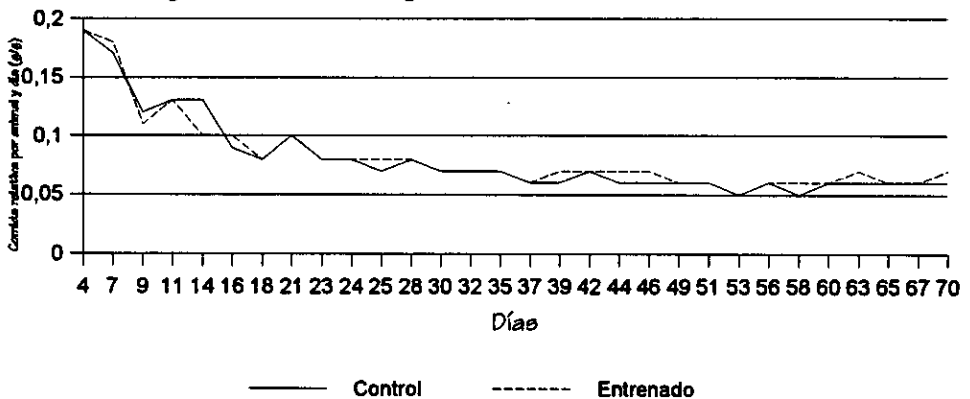
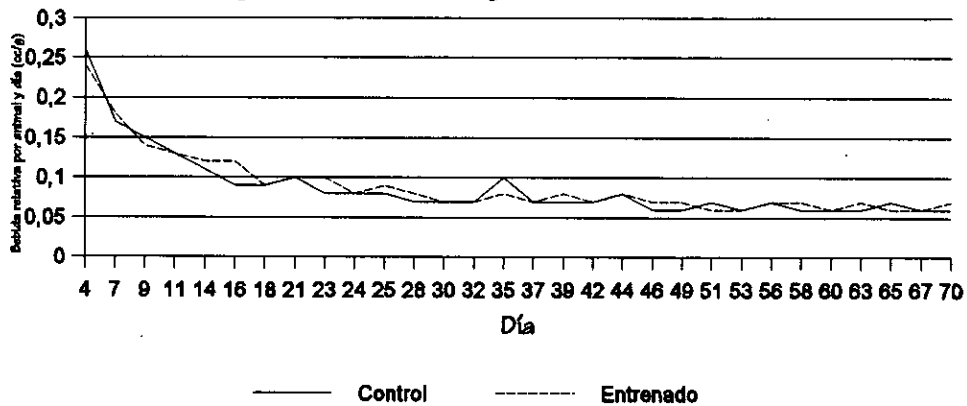


Fig. IV.1.10.- Estudio longitudinal relativizado de la bebida



IV.2.- Estudio para el establecimiento de la división del cartílago articular en regiones morfofuncionales distintas. (material y métodos, pg. 163)

Para definir o establecer las regiones morfofuncionales del cartílago articular necesitamos estudiar previamente las variables cualitativas. A pesar de ello, para facilitar la comprensión del lector, comenzaremos exponiendo la distribución de las regiones.

Podemos definir cuatro regiones con características morfológicas diferentes y cuantificar su tamaño relativo en el cóndilo (proporción). Las regiones que encontramos de anterior a posterior y que caracterizaremos en función del comportamiento de las variables cualitativas objeto de estudio se denominan 1, 2, 3 y 4.

Las regiones 1 y 4 se corresponden con los extremos anterior y posterior del cóndilo, respectivamente. Ambas reciben bajos volúmenes de carga y se pueden denominar **regiones de menor carga**, una anterior y otra posterior.

Las regiones 2 y 3 se sitúan en la porción central del cóndilo, que se corresponde con el lugar que soporta la carga usual del mismo. La región 2 se puede denominar **región de carga usual anterior** o **región de carga intermedia** y la región

3 se denomina **región de carga usual posterior** o, teniendo en cuenta que recibe la mayor intensidad de cargas, también puede llamarse **región de máxima carga**.

Región	Situación en el cóndilo	Solicitación mecánica	Denominación topográfica-funcional
1	Extremo anterior	Bajo volumen de carga	Región de menor carga anterior
2	Porción central anterior	Carga usual intermedia	Región de carga usual anterior o Región de carga intermedia
3	Porción central posterior	Carga usual máxima	Región de carga usual posterior o Región de máxima carga
4	Extremo posterior	Bajo volumen de carga	Región de menor carga posterior

Al no estar netamente definidos los límites entre las regiones, parece más adecuado referirnos a ellos como regiones de transición, en las que se observan cambios graduales entre las características morfológicas de las regiones contiguas.

A continuación describimos el comportamiento de cada variable cualitativa en cada una de las cuatro regiones definidas:

La **radialización condrocitaria** y su grosor relativo en el cartílago se comportan de manera que:

- La región 1 no presenta radialización de sus células.
- La región 2 presenta un intento de radialización en una zona de menor grosor que en la región 3.
- La región 3 presenta una clara radialización condrocitaria y un grosor aproximadamente el doble que en el resto de regiones.
- La región 4 no presenta una radialización clara de sus células.

El estudio del **tidemark** reveló que:

- Está presente en la región de menor carga anterior del cóndilo o región 1.
- Está presente en la región de carga usual anterior o región 2.
- En la región de mayor carga o región 3 se difumina hasta desaparecer, reapareciendo en las regiones de transición con sus vecinas.
- En la región de menor carga posterior o región 4 está perfectamente definido.

El **compartimento subcondral** presenta las siguientes particularidades:

- En la región 1 encontramos una lámina continua dispuesta predominantemente paralela a la superficie articular. La porción superior está formada por material osteoide, que raramente se interdigita con el tejido óseo subyacente.
- En la región 2 la lámina de osteoide es más gruesa y se continúa con el osteoide propio de las trabéculas secundarias que la sustentan.
- En la región 3 la disposición responde a un patrón similar al de la región 2, pero mucho más complejo, debido a la presencia de una red trabecular.
- En la región 4 está formado por una capa muy delgada de material osteoide, bajo la que se distingue una lámina continua de tejido óseo.

El **cartílago epifisario**, cuando existe, se ubica bajo el cartílago articular y sobre el hueso subcondral, si bien, sufre variaciones:

- En la región 1 el grosor es mucho menor que en la región 2, e incluso llega a desaparecer.
- En la región 2 presenta el mayor grosor.
- En la región 3 apenas existe cartílago epifisario.
- En la región 4 no existe.

IV.3.- Estudio de la longitud y la curvatura de la superficie del cartílago articular. (material y métodos, pg. 164)

IV.3.1.- Variables de estudio

Variables de estudio	Estudios realizados
Arco por región. Cuerda por región. Curvatura por región (arco/cuerda).	Longitud del arco y la cuerda para cada región en los animales de los grupos control y entrenado, y su comparación entre regiones del mismo grupo y entre grupos. Cálculo de la curvatura para cada región en los animales de los grupos control y entrenado y su comparación entre regiones del mismo grupo y entre grupos.
Sumatorio de arcos. Sumatorio de cuerdas. Cuello del cóndilo.	Suma de los arcos de todas las regiones del cartílago en cada grupo. Suma de las cuerdas de todas las regiones del cartílago en cada grupo. Medición del cuello del cóndilo en cada grupo. Comparaciones de estos parámetros entre grupos.

Variables de estudio	Estudios realizados:
Curvatura total. (arco total/sumatorio de cuerdas) Curvatura total (arco total/cuello del cóndilo)	Cálculo de la curvatura total en los animales de los grupos control y entrenado: - División entre el sumatorio de arcos y el sumatorio de cuerdas. - División entre el sumatorio de arcos y el cuello del cóndilo. Comparación entre grupos.
Longitud relativa de las regiones	Cálculo de la longitud relativa de las regiones y su comparación entre regiones del mismo grupo y entre grupos.

IV.3.2.- Estudio por grupos

IV.3.2.1.- Grupo control

Estudio de la superficie articular por regiones

En el estudio por regiones, encontramos que la región más amplia es la 3, con $340,92 \pm 16,90 \mu\text{m}$ de arco y $262,12 \pm 11,16 \mu\text{m}$ de cuerda; su curvatura es de $1,30 \pm 0,04$.

Las regiones 1 y 2 presentan valores menores y similares entre sí; los arcos tienen un valor de $265,15 \pm 10,52 \mu\text{m}$ y $247,35 \pm 14,16 \mu\text{m}$, respectivamente. Las cuerdas presentan el mismo comportamiento $237,90 \pm 10,94 \mu\text{m}$ (región 1) y $228,40 \pm 15,14 \mu\text{m}$ (región 2); la curvatura en la región 1 es de $1,12 \pm 0,07$ y en la región 2 es de $1,09 \pm 0,04$.

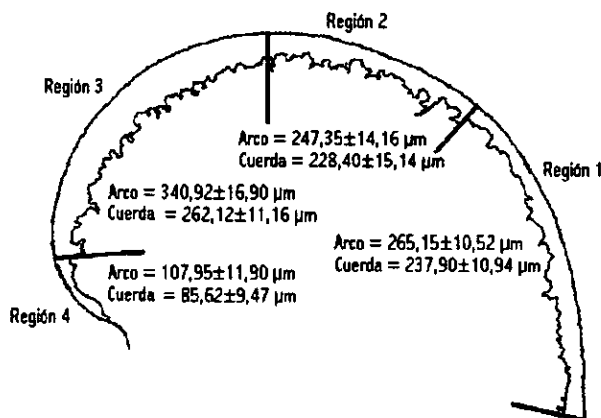


Figura IV.3.1.- Estudio por regiones, grupo control

La región 4 es la que presenta menores dimensiones, $107,95 \pm 11,90 \mu\text{m}$ de arco, $85,62 \pm 9,47 \mu\text{m}$ de cuerda, y una curvatura de $1,27 \pm 0,08$ (tabla y figura IV.3.1).

Tabla IV.3.1.- Grupo control: longitudes de arcos y cuerdas en μm y curvatura				
	Región 1	Región 2	Región 3	Región 4
Arco	$265,15 \pm 10,52$	$247,35 \pm 14,16$	$340,92 \pm 16,90$	$107,95 \pm 11,90$
Cuerda	$237,90 \pm 10,94$	$228,40 \pm 15,14$	$262,12 \pm 11,16$	$85,62 \pm 9,74$
Curvatura	$1,12 \pm 0,07$	$1,09 \pm 0,04$	$1,30 \pm 0,04$	$1,27 \pm 0,08$

Estudio de la superficie articular completa

La longitud del arco es de $961,37 \pm 14,88 \mu\text{m}$, las cuerdas suman $814,03 \pm 15,48 \mu\text{m}$ y el cuello del cóndilo $479,08 \pm 12,77 \mu\text{m}$. La curvatura, calculada como cociente entre el sumatorio de los arcos y el de las cuerdas tiene un valor de $1,18 \pm 0,01$ y calculada como cociente entre el sumatorio de los arcos y el cuello del cóndilo tiene un valor de $2,01 \pm 0,16$ (tabla y figura IV.3.2).

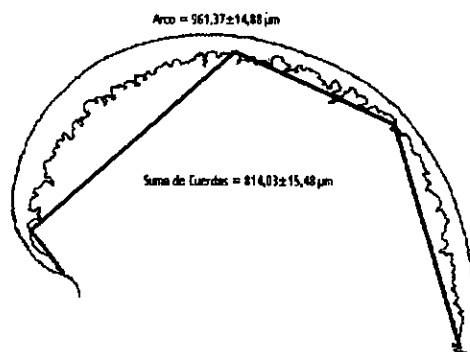


Figura IV.3.2 - Grupo control

Tabla IV.3.2.- Grupo control: longitudes del arco, la cuerda y el cuello (medidas en μm) y la curvatura	
Arco	$961,37 \pm 14,88$
Cuerda	$814,03 \pm 15,48$
Cuello del cóndilo	$479,08 \pm 12,77$
Curvatura ($\frac{\text{arcos}}{\text{cuerdas}}$)	$1,18 \pm 0,01$
Curvatura ($\frac{\text{arcos}}{\text{cuello del cóndilo}}$)	$2,01 \pm 0,16$

IV.3.2.2.- Grupo entrenado

Estudio de la superficie articular por regiones

En el estudio por regiones, encontramos que la región más amplia es la 3, con $351,90 \pm 5,97 \mu\text{m}$ de arco y $272,33 \pm 3,28 \mu\text{m}$ de cuerda; su curvatura es de $1,29 \pm 0,06$.

Las regiones 1 y 2 presentan valores menores y similares entre sí; los arcos tienen un valor de $273,12 \pm 27,32 \mu\text{m}$ (región 1) y $280,70 \pm 14,27 \mu\text{m}$ (región 2), las cuerdas presentan el mismo comportamiento $252,28 \pm 24,30 \mu\text{m}$ (región 1) y $251,52 \pm 12,82 \mu\text{m}$ (región 2); la curvatura en la región 1 es de $1,08 \pm 0,04$ y en la región 2 es de $1,12 \pm 0,05$.

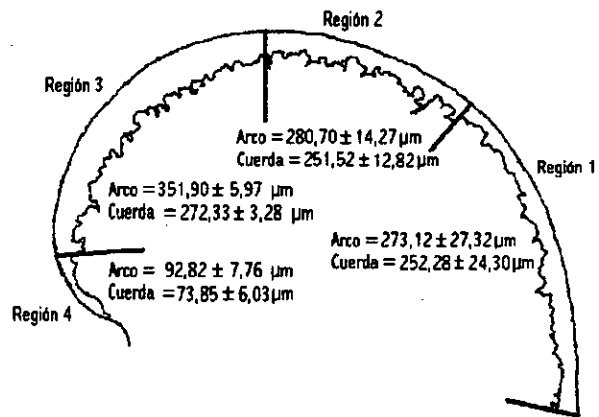


Figura IV.3.3.- Estudio por regiones, grupo entrenado

La región 4 es la que presenta menores dimensiones, $92,82 \pm 7,76 \mu\text{m}$ de arco y

$73,85 \pm 6,03 \mu\text{m}$ de cuerda. La curvatura es de $1,26 \pm 0,09$ (tabla y figura IV.3.3).

Tabla IV.3.3.-Grupo entrenado: longitudes de arcos y cuerdas en μm y curvatura				
	Región 1	Región 2	Región 3	Región 4
Arco	$273,12 \pm 27,32$	$280,70 \pm 14,27$	$351,90 \pm 5,97$	$92,82 \pm 7,76$
Cuerda	$252,28 \pm 24,30$	$251,52 \pm 12,82$	$272,33 \pm 3,28$	$73,85 \pm 6,03$
Curvatura	$1,08 \pm 0,04$	$1,12 \pm 0,05$	$1,29 \pm 0,06$	$1,26 \pm 0,09$

Estudio de la superficie articular completa

La longitud del arco es de $998,53 \pm 29,38 \mu\text{m}$, las cuerdas suman $849,98 \pm 34,69 \mu\text{m}$ y el cuello del cóndilo $457,25 \pm 13,61 \mu\text{m}$. La curvatura, calculada como cociente entre el sumatorio de los arcos y el de las cuerdas tiene un valor de $1,18 \pm 0,04$ y calculada como cociente entre el sumatorio de los arcos y el cuello del cóndilo tiene un valor de $1,84 \pm 0,81$ (tabla y figura IV.3.4).

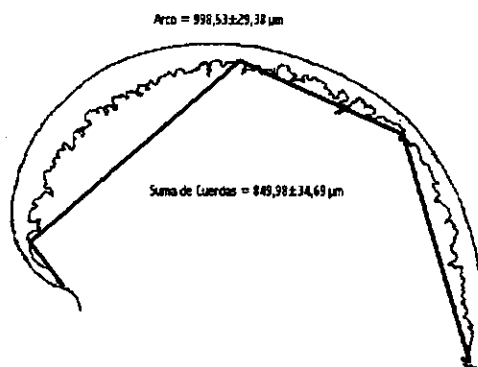


Figura IV.3.4.- Grupo entrenado

Tabla IV.3.4.- Grupo entrenado: longitudes del arco, la cuerda y al cuello (medidas en μm) y la curvatura	
Arco	$998,53 \pm 29,38$
Cuerda	$849,98 \pm 34,69$
Cuello del cóndilo	$457,25 \pm 13,61$
Curvatura ($\frac{\text{Arco}}{\text{Cuerdas}}$)	$1,18 \pm 0,04$
Curvatura ($\frac{\text{Arco}}{\text{cuello del cóndilo}}$)	$1,84 \pm 0,81$

IV.3.3.- Estudios comparativos

Tras realizar un análisis factorial general, donde se estudian los grupos y las regiones como fuentes de variación, así como su combinación, obtenemos que la región es el único factor significativo como fuente de variación con $p < 0,000$. En consecuencia, no tienen razón de ser las comparaciones intergrupales, por lo que sólo exponemos los resultados de los estudios intragrupo.

IV.3.3.1.- Comparaciones regionales

Al no existir diferencias entre los dos grupos para las variables estudiadas, la exposición de los resultados regionales se hará considerando que ambos grupos constituyen una misma población.

Estudio de los arcos

La normalidad de los *arcos por región* se garantiza con el test de Kolmogorov-Smirnov con la corrección de Lillefors, obteniendo las significaciones de $>0,200$, $0,124$, $0,175$ y $>0,200$ para las regiones 1, 2, 3 y 4 respectivamente.

La igualdad de varianzas se demuestra mediante el test de Levene cuyo nivel de significación es de $0,447$.

Se realiza un análisis de la varianza con un factor (región) y se obtiene un valor de $p < 0,000$, por lo que se puede concluir que existen diferencias regionales.

Tras el análisis detallado de las diferencias regionales a través del test de Scheffe ($p < 0,05$), podemos establecer que la región 3 es la de mayor longitud de arco, seguida de las regiones 1 y 2, aproximadamente iguales entre sí y, a su vez, mayores que la región 4:

$$R3 > (R1 \approx R2) > R4; (p < 0,05)$$

Estudio de las cuerdas

La normalidad de las *cuerdas por región* se garantiza con el test de Kolmogorov-Smirnov con la corrección de Lillefors obteniéndose las significaciones de $0,138$, $0,175$, $0,080$ y $>0,200$ para las regiones 1, 2, 3 y 4 respectivamente.

La igualdad de varianzas se demuestra mediante el test de Levene cuyo nivel de significación es de $0,065$.

Se realiza un análisis de la varianza con un factor (región) y se obtiene un valor de $p < 0,000$, por lo que se puede concluir que existen diferencias regionales.

Tras el análisis detallado de las diferencias regionales a través del test de Scheffe ($p < 0,05$), podemos establecer que las regiones 1, 2 y 3 presentan una longitud de cuerda similar y menor que la región 4:

$$(R1 \approx R2 \approx R3) > R4$$

Estudio de las curvidades

La normalidad de las *curvidades por región* se garantiza con el test de Kolmogorov-Smirnov con la corrección de Lillefors, obteniendo las significaciones de $>0,200$, $0,094$, $>0,200$ y $>0,200$ para las regiones 1, 2, 3 y 4 respectivamente.

La igualdad de varianzas se demuestra mediante el test de Levene cuyo nivel de significación es de $0,054$.

Se realiza un análisis de la varianza con un factor (región) y se obtiene un valor de $p < 0,000$, por lo que se puede concluir que existen diferencias regionales.

Tras el análisis detallado de las diferencias regionales a través del test de Scheffe ($p < 0,05$), podemos establecer que las regiones 1 y 2 presentan una curvatura similar y menor que las regiones 3 y 4 que también presentan una curvatura similar:

$$(R1 \approx R2) < (R3 \approx R4)$$

Estudio de las longitudes relativas

El cálculo permite establecer las longitudes relativas que corresponden a la superficie de cada una de las regiones morfofuncionales del cartilago articular. Así podremos determinar las dimensiones de las regiones de mayor y menor carga.

Los arcos y cuerdas de cada una de las regiones representan, con relación a los sumatorios de los arcos y de las cuerdas de la superficie articular completa, los porcentajes recogidos en la tabla y figura IV.3.5.

	Región 1	Región 2	Región 3	Región 4
Arco	27,45 ± 0,29	26,94 ± 0,02	35,37 ± 0,58	10,23 ± 0,30
Cuerda	29,44 ± 0,33	28,84 ± 0,02	32,14 ± 0,63	9,57 ± 0,29

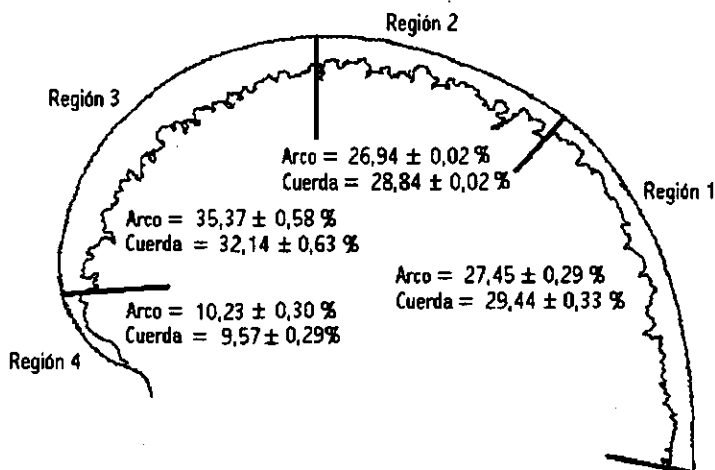


Figura IV.3.5.- Estudio de longitudes relativas

IV.4.- Estudio del grosor y la celularidad del cartílago articular (material y métodos, pg. 166)

IV.4.1.- Variables de estudio

Variables de estudio	Estudios realizados
Grosor absoluto	Medida del grosor del cartílago articular para cada región en los animales de los grupos control y entrenado, y su comparación entre regiones del mismo grupo y entre grupos.
Grosor relativo	Medida del grosor del cartílago articular en relación con la longitud total del fémur para cada región en los animales de los grupos control y entrenado, y su comparación entre regiones del mismo grupo y entre grupos.
Celularidad	Medida y cálculo de la celularidad del cartílago articular para cada región en los animales de los grupos control y entrenado, y su comparación entre regiones del mismo grupo y entre grupos.

IV.4.2.- Grupo control

Los datos de los animales pertenecientes al grupo control, en las cuatro regiones de estudio se muestran en la tabla y en la figura IV.4.1.

En la región 1 el grosor absoluto del cartilago articular es $14,29 \pm 2,98 \mu\text{m}$, el grosor relativo $3,72 \pm 0,79$ y la celularidad $27,07 \pm 4,51 \text{ células}/1000 \mu\text{m}^2$. En la región 2 el grosor absoluto es $13,51 \pm 2,82 \mu\text{m}$, el grosor relativo $3,51 \pm 0,73$, mientras que la celularidad es $21,47 \pm 3,10 \text{ células}/1000 \mu\text{m}^2$. En la región 3 el grosor absoluto alcanza las $28,22 \pm 4,67 \mu\text{m}$, el grosor relativo es $7,34 \pm 1,22$ y la celularidad $13,74 \pm 1,96 \text{ células}/1000 \mu\text{m}^2$. La región 4 tiene un grosor absoluto de $14,08 \pm 4,53 \mu\text{m}$, un grosor relativo de $3,66 \pm 1,16$, y una celularidad de $21,10 \pm 4,83 \text{ células}/1000 \mu\text{m}^2$ (Tabla y figura IV.4.1).

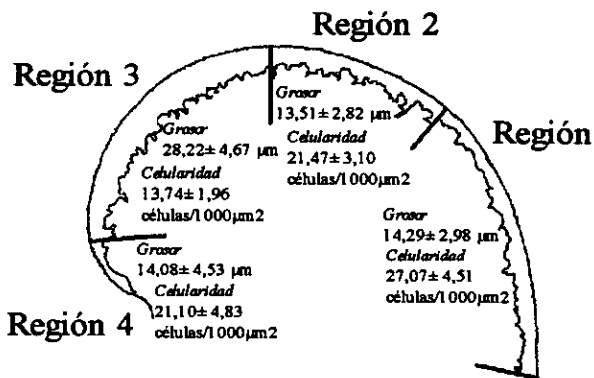


Figura IV.4.1.- Estudio por regiones del grosor y la celularidad del cartilago articular del grupo control

Tabla IV.4.1.- Grupo control. grosor absoluto (μm), grosor relativo ($\times 10^3$) y celularidad ($\text{células}/1000 \mu\text{m}^2$).				
	Región 1	Región 2	Región 3	Región 4
Grosor absoluto	$14,29 \pm 2,98$	$13,51 \pm 2,82$	$28,22 \pm 4,67$	$14,08 \pm 4,53$
Grosor relativo	$3,72 \pm 0,79$	$3,51 \pm 0,73$	$7,34 \pm 1,22$	$3,66 \pm 1,16$
Celularidad	$27,07 \pm 4,51$	$21,47 \pm 3,10$	$13,74 \pm 1,96$	$21,10 \pm 4,83$

IV.4.2.1.- Comparaciones intragrupo

Previamente, garantizamos la normalidad, para un $\alpha = 0,05$ en relación a las variables grosor y celularidad, a través del test de Kolmogorov-Smirnov, obteniéndose para las variables transformadas logaritmo neperiano del grosor y raíz cuadrada de la celularidad los p valores 0,458 y 0,312 respectivamente.

Se realiza, asimismo, una prueba de estabilización de la varianza sobre las mismas variables transformadas, obteniéndose los p valores de 0,765 para el grosor y 0,098 para la celularidad, lo que garantiza la igualdad de varianzas para un $\alpha = 0,05$.

Para analizar el comportamiento de las cuatro regiones de estudio (subpoblaciones o grupos establecidos de la variable independiente), se realiza un análisis de la varianza con un factor (región), tanto para el neperiano del grosor como para la raíz cuadrada de la celularidad.

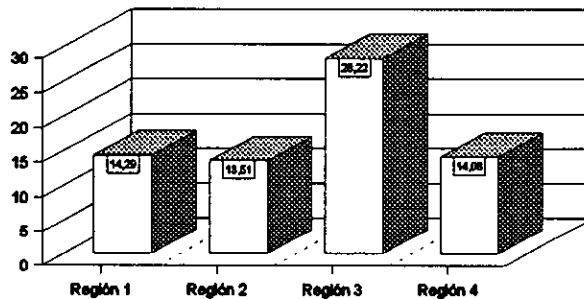
Grosor

En el análisis de la varianza del logaritmo neperiano del grosor en los cuatro grupos establecidos por los valores de la región, el p -valor asociado al estadístico F toma un valor de 0,0000, que es menor que $\alpha = 0,05$, por lo que se rechazará la hipótesis nula que supondría iguales a los cuatro grupos definidos por la variable región.

Rechazada la hipótesis nula, se sabe que existe por lo menos una diferencia significativa ente algún par de regiones, pero no entre cuál o cuáles. Para ello se considera el método de Scheffé de comparación múltiple que no requiere tamaños muestrales iguales (recuerdese que las regiones 1, 2 y 3, tienen los mismos tamaños muestrales y la región 4 la mitad). Deshecha la transformación de la variable, la aplicación de este test nos ofrece los siguientes resultados: las regiones 1, 2 y 4 tienen valores similares, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre ellas. La región 3 presenta valores aproximadamente dos veces mayores y con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) con el resto de las regiones (tabla y figura IV.4.2).

Tabla IV.4.2.-Método de comparación múltiple de Scheffé para el grosor absoluto del grupo control.

	Región 1	Región 2	Región 3	Región 4
Región 1		No Sig.	$p < 0,05$	No Sig.
Región 2	No Sig.		$p < 0,05$	No Sig.
Región 3	$p < 0,05$	$p < 0,05$		$p < 0,05$
Región 4	No Sig.	No Sig.	$p < 0,05$	

Figura IV.4.2.- Grosor (μm), grupo control.

Celularidad

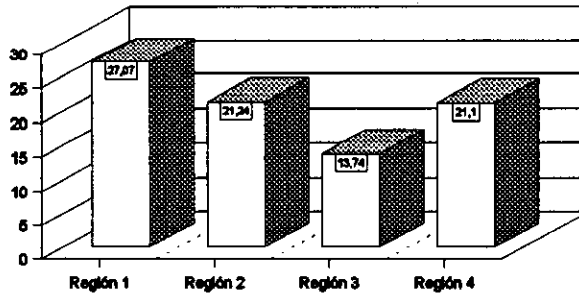
En el análisis de la varianza de la raíz cuadrada de la celularidad en los cuatro grupos establecidos por los valores de la región, el p -valor asociado al estadístico F toma un valor de 0,0000, menor que $\alpha = 0,05$, por lo que se rechazará la hipótesis nula que supondría iguales a los cuatro grupos.

Rechazada la hipótesis nula, se sabe que existe por lo menos una diferencia significativa ente algún par de regiones, pero no entre cuál o cuáles. Para ello se considera el método de Scheffé de comparación múltiple. Deshecha la transformación, la aplicación de este test nos ofrece los siguientes resultados: las regiones 2 y 4 tienen valores similares, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre ellas. La región 3 presenta valores menores que el resto de las regiones, encontrándose diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). La región 1 presenta una celularidad significativamente mayor ($p < 0,05$) que el resto de las regiones (tabla y figura IV.4.3).

Tabla IV.4.3.- Método de comparación múltiple de Scheffé para la celularidad del grupo control

	Región 1	Región 2	Región 3	Región 4
Región 1		p<0,05	p<0,05	p<0,05
Región 2	p<0,05		p<0,05	No Sig.
Región 3	p<0,05	p<0,05		p<0,05
Región 4	p<0,05	No Sig.	p<0,05	

Figura IV.4.3.- Celularidad (células por 1000 μm^2), grupo control



IV.4.3.- Grupo entrenado

Los datos de los animales pertenecientes al grupo entrenado, en las cuatro regiones de estudio se muestran en la tabla y en la figura IV.4.4.

En la región 1 el grosor absoluto del cartilago articular es de $13,51 \pm 2,58 \mu\text{m}$, el grosor relativo de $3,63 \pm 0,69$ y la celularidad es de $28,10 \pm 5,24 \text{ células}/1000 \mu\text{m}^2$. En la región 2 el grosor absoluto es de $12,83 \pm 2,36 \mu\text{m}$, el grosor relativo

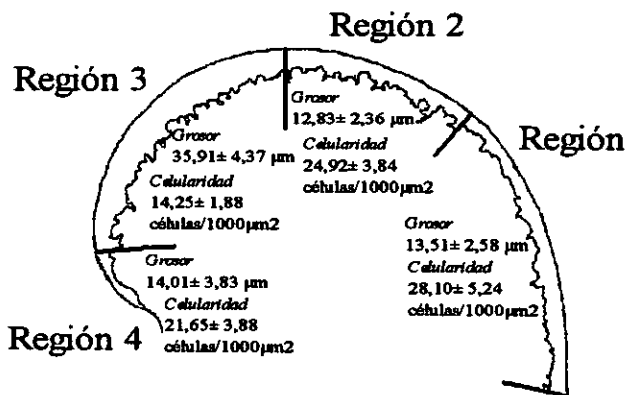


Figura IV.4.4.- Estudio por regiones del grosor y la celularidad del cartilago articular del grupo entrenado

de $3,45 \pm 0,64$, y la celularidad de $24,92 \pm 3,84$ células / $1000 \mu\text{m}^2$. En la región 3 el grosor absoluto alcanza las $35,91 \pm 4,37 \mu\text{m}$, el grosor relativo es de $9,64 \pm 1,17$ y la celularidad de $14,25 \pm 1,88$ células / $1000 \mu\text{m}^2$. La región 4 tiene un grosor absoluto de $14,01 \pm 3,83 \mu\text{m}$, un grosor relativo de $3,76 \pm 1,04$ y una celularidad de $21,65 \pm 3,88$ células / $1000 \mu\text{m}^2$ (Tabla y figura IV.4.4).

	Región 1	Región 2	Región 3	Región 4
Grosor absoluto	$13,51 \pm 2,58$	$12,83 \pm 2,36$	$35,91 \pm 4,37$	$14,01 \pm 3,83$
Grosor relativo	$3,63 \pm 0,69$	$3,45 \pm 0,64$	$9,64 \pm 1,17$	$3,76 \pm 1,04$
Cellularidad	$28,10 \pm 5,24$	$24,92 \pm 3,84$	$14,25 \pm 1,88$	$21,65 \pm 3,88$

IV.4.3.1.- Comparaciones intragrupo

Previamente, garantizamos la normalidad para las variables grosor y celularidad, a través del test de Kolmogorov-Smirnov, obteniéndose para las variables transformadas logaritmo neperiano del grosor y raíz cuadrada de la celularidad los p valores 0,209 y 0,261 respectivamente, lo que garantiza la normalidad con un $\alpha = 0,05$.

Se realiza una prueba de estabilización de la varianza sobre las mismas variables transformadas, obteniéndose los p valores de 0,176 para el grosor y 0,939 para la celularidad, lo que garantiza la igualdad de varianzas para un $\alpha = 0,05$.

Para analizar el comportamiento de las cuatro regiones de estudio (subpoblaciones o grupos establecidos de la variable independiente), se realiza un análisis de la varianza con un factor (región), tanto para el neperiano del grosor como para la raíz cuadrada de la celularidad.

Grosor

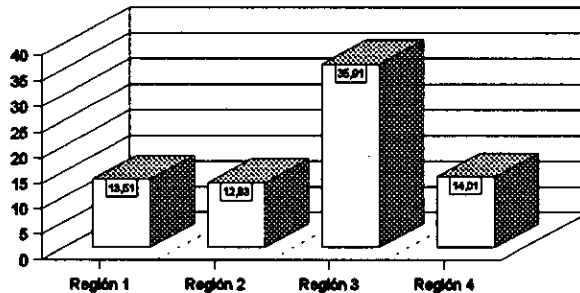
En el análisis de la varianza del logaritmo neperiano del grosor en los cuatro grupos establecidos por los valores de la región, el p -valor asociado al estadístico F toma un valor de 0,0000, menor que $\alpha = 0,05$, por lo que se rechazará la hipótesis nula que supondría iguales a los cuatro grupos.

Rechazada la hipótesis nula, se sabe que existe por lo menos una diferencia significativa ente algún par de regiones, pero no entre cuál o cuáles. Para ello se considera el método de Scheffé de comparación múltiple que no requiere tamaños muestrales iguales (recuérdese que los tamaños muestrales son iguales en las regiones 1,2 y 3, teniendo la mitad de este tamaño la región 4). Deshecha la transformación, la aplicación de este test nos ofrece los siguientes resultados: las regiones 1 y 2 tienen valores similares, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre ellas, la región 4 es significativamente mayor que ellas ($p < 0,05$) y menor que la región 3 que presenta valores aproximadamente tres veces mayores al resto de las regiones, encontrándose diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) con el resto de las regiones (tabla y figura IV.4.5).

Tabla IV.4.5.- Método de comparación múltiple de Scheffé para el grosor absoluto del grupo entrenado.

	Región 1	Región 2	Región 3	Región 4
Región 1		No Sig.	$p < 0,05$	$p < 0,05$
Región 2	No Sig.		$p < 0,05$	$p < 0,05$
Región 3	$p < 0,05$	$p < 0,05$		$p < 0,05$
Región 4	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	

Figura IV.4.5.- Grosor (μm), grupo entrenado.



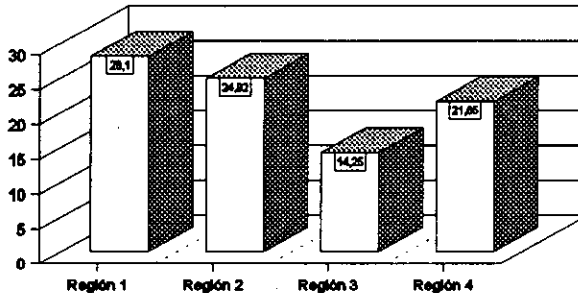
Celularidad

En el análisis de la varianza de la raíz cuadrada de la celularidad en los cuatro grupos establecidos por los valores de la región, el p -valor asociado al estadístico F toma un valor de 0,0000, menor que $\alpha = 0,05$ por lo que se rechazará la hipótesis nula que supone iguales a los cuatro grupos.

Rechazada la hipótesis nula, se sabe que existe por lo menos una diferencia significativa ente algún par de regiones, pero no entre cuál o cuáles. Para ello se considera el método de Scheffé de comparación múltiple que no requiere tamaños muestrales iguales. Deshecha la transformación, la aplicación de este test nos ofrece los siguientes resultados: las regiones son todas diferentes ($p < 0,05$) de tal manera que la de mayor celularidad es la región 1, seguida por las regiones 2 y 4. Finalmente la región 3 tiene menor celularidad ($p < 0,05$) que las demás (tabla y figura IV.4.6).

	Región 1	Región 2	Región 3	Región 4
Región 1		$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$
Región 2	$p < 0,05$		$p < 0,05$	$p < 0,05$
Región 3	$p < 0,05$	$p < 0,05$		$p < 0,05$
Región 4	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	

Figura IV.4.6.- Celularidad (cél. / 1000 μm^2), grupo entrenado.



IV.4.4.- Comparación por regiones entre grupos control y entrenado.

IV.4.4.1.- Región 1

Garantizamos la normalidad en relación a las variables grosor absoluto, relativo y celularidad, a través del test de Kolmogorov-Smirnov y su variante de Lillefors, obteniéndose para la variable transformada logaritmo neperiano del grosor absoluto un p valor de 0,353 para el test K-S. El grosor relativo tiene un valor de 0,092 para el test K-S. La celularidad se comprueba con la variante Lillefors, obteniéndose

una $p > 0,200$. Con estos valores se garantiza la normalidad para un $\alpha = 0,05$ en todos los casos.

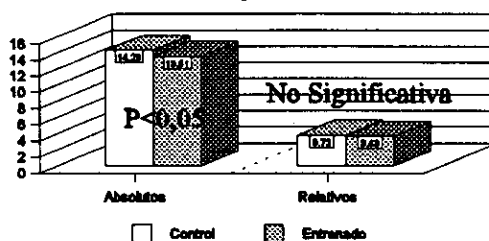
La prueba de estabilización de la varianza (test de Levene) garantiza la igualdad de varianzas para un $\alpha = 0,05$, sobre las tres variables anteriores, obteniéndose los p valores de 0,625 para el grosor absoluto, 0,504 para el grosor relativo y 0,636 para la celularidad.

Grosos absoluto y relativo

Para establecer el efecto del entrenamiento, se realiza un análisis de la varianza con el factor grupo, para el neperiano del grosor absoluto y el grosor relativo, obteniéndose que:

- Para el grosor absoluto, el p -valor asociado al estadístico F toma un valor de 0,003, menor que $\alpha = 0,05$, por lo que se rechaza la hipótesis nula que supone la igualdad de los dos niveles definidos por la variable grupo. El grosor de los animales del grupo control en la región 1 es significativamente mayor que en los entrenados (figura IV.4.7).

Figura IV.4.7.- Comparación de grososres (μm) absolutos y relativos entre grupos Región 1

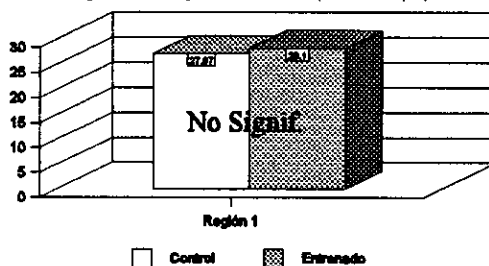


- En el grosor relativo obtenemos un p valor de 0,195 por lo que, al aceptar la hipótesis nula, no se pueden establecer diferencias entre ambos grupos (figura IV.4.7).

Celularidad

Para averiguar el efecto del entrenamiento, se realiza un análisis de la varianza de la celularidad con el factor grupo, obteniéndose que el p -valor asociado al estadístico F toma un valor de 0,416 mayor que $\alpha = 0,05$, por lo que se

Figura IV.4.8.- Comparación celularidades (células / 1000 μm^2) Región 1



aceptará la hipótesis nula, no pudiendo establecer diferencias entre ambos grupos (figura IV.4.8).

IV.4.4.2.- Región 2

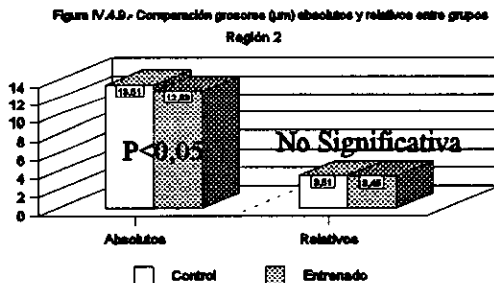
Garantizamos la normalidad en relación a las variables grosor absoluto, grosor relativo y celularidad, a través del test de Kolmogorov-Smirnov y su variante Lilliefors, obteniéndose para la variable transformada logaritmo neperiano del grosor absoluto un p valor de 0,079 para el test K-S. El grosor relativo tiene un valor de 0,104 para el test K-S. La celularidad se comprueba con la variante Lilliefors, obteniéndose una $p > 0,200$. Con estos valores se garantiza la normalidad para un $\alpha = 0,05$ en todos los casos.

El test de Levene garantiza la igualdad de varianzas para un $\alpha = 0,05$ de las tres variables anteriores, obteniéndose los p valores de 0,421 para el grosor absoluto, 0,223 para el grosor relativo y 0,995 para la celularidad.

Grosos absolutos y relativos

Para establecer el efecto del entrenamiento, se realiza un análisis de la varianza con el factor grupo, para el neperiano del grosor y el grosor relativo, obteniéndose que:

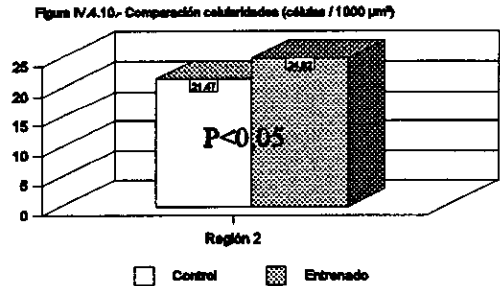
- Para el grosor absoluto, el p -valor asociado al estadístico F toma un valor de 0,009, menor que $\alpha = 0,05$, por lo que se rechazará la hipótesis nula que supone iguales a los dos niveles definidos por la variable grupo. El grosor de la región 2 en los animales controles es significativamente mayor que en los entrenados (figura IV.4.9).



- En el grosor relativo obtenemos un p valor de 0,328 por lo que, al aceptar la hipótesis nula, no se pueden establecer diferencias entre ambos grupos (figura IV.4.9).

Celularidad

Para averiguar el efecto del entrenamiento, se realiza un análisis de la varianza con el factor grupo, obteniéndose que el p -valor asociado al estadístico F toma un valor de 0,0001, menor que $\alpha = 0,05$, por lo que se rechaza la hipótesis nula que supone iguales a los dos grupos definidos por la variable grupo. La celularidad de la región 2 es significativamente mayor en los animales del grupo entrenado (figura IV.4.10).



IV.4.4.3.- Región 3

Garantizamos la normalidad para un $\alpha = 0,05$ en las variables grosor absoluto, grosor relativo y celularidad, mediante el test de Kolmogorov-Smirnov y su variante Lillefors. Para la variable transformada logaritmo neperiano del grosor absoluto se obtiene un p valor de 0,376 para el test K-S. El grosor relativo tiene un valor de 0,376 para el test K-S y la celularidad se comprueba con la variante Lillefors, obteniéndose una $p > 0,200$.

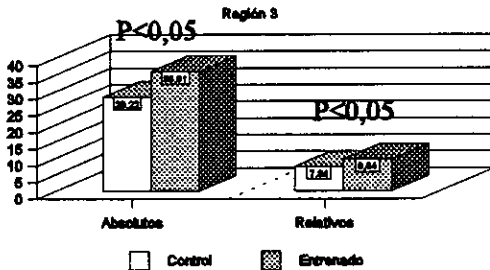
El test de Levene garantiza la igualdad de varianzas, para un $\alpha = 0,05$ de las tres variables anteriores, obteniéndose los p valores de 0,397 para el grosor absoluto, 0,741 para el grosor relativo y 0,607 para la celularidad.

Grosos absolutos y relativos

Para establecer el efecto del entrenamiento, se realiza un análisis de la varianza con el factor grupo, para el neperiano del grosor absoluto y el grosor relativo, obteniéndose que:

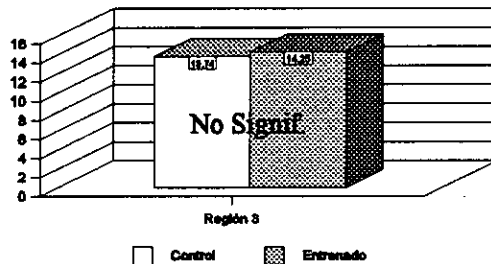
- Para el grosor absoluto, el p -valor asociado al estadístico F toma un valor de 0,000 es menor que $\alpha = 0,05$, por lo que se rechaza la hipótesis nula que supone la igualdad de los niveles definidos por la variable grupos. El grosor absoluto de la región 3 es significativamente mayor en los animales del grupo entrenado (figura IV.4.11).

- En el grosor relativo obtenemos un p valor de 0,000 por lo que se rechaza la hipótesis nula (diferencia entre grupos control y entrenado). En la región 3, el grosor relativo es significativamente mayor en los animales entrenados (figura IV.4.11).

Figura IV.4.11.- Comparación grosores (μm) absolutos y relativos entre grupos

Celularidad

Para establecer el efecto del entrenamiento, se realiza un análisis de la varianza con el factor grupo, obteniéndose que el p -valor asociado al estadístico F toma un valor de 0,258 mayor que $\alpha = 0,05$, por lo que se aceptará la hipótesis nula que supone iguales a los dos niveles definidos por la variable grupo, no pudiendo encontrar diferencias entre los animales controles y entrenados para la región 3 (figura IV.4.12).

Figura IV.4.12.- Comparación celularidades (células / 1000 μm^2)

IV.4.4.4.- Región 4

Garantizamos la normalidad para un $\alpha = 0,05$ en las variables grosor absoluto, grosor relativo y celularidad, a través del test de Kolmogorov-Smirnov y su variante de Lilliefors. Para la variable transformada logaritmo neperiano del grosor absoluto se obtiene un K-S Lilliefors con $p > 0,200$. El grosor relativo tiene un valor de 0,074 para el test K-S. La celularidad se comprueba con la variante Lilliefors, obteniéndose una $p > 0,200$.

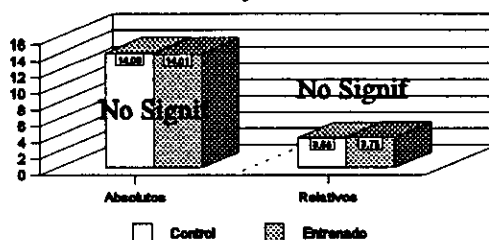
El test de Levene garantiza la igualdad de varianzas para un $\alpha = 0,05$ en las tres variables anteriores, obteniéndose los p valores de 0,054 para el grosor absoluto, 0,146 para el grosor relativo y 0,123 para la celularidad.

Grosos absolutos y relativos

Para averiguar el efecto del entrenamiento, se realiza un análisis de la varianza con el factor grupo, para el neperiano del grosor absoluto y el grosor relativo, obteniéndose que:

- Para el grosor absoluto p -valor asociado al estadístico F toma un valor de 0,847 mayor que $\alpha = 0,05$, por lo que se acepta la hipótesis nula que supone los dos grupos definidos por la variable grupos son iguales, no pudiéndose, de este modo, establecer diferencias significativas entre los animales controles y los entrenados para esta región 4 (figura IV.4.13).

Figura IV.4.13.-Comparación de grosos (μm) absolutos y relativos entre grupos Región 4

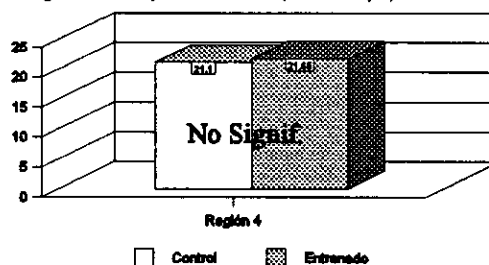


- En el grosor relativo obtenemos un p valor de 0,484 por lo que, al aceptar la hipótesis nula, no se pueden establecer diferencias entre ambos grupos (figura IV.4.13).

Celularidad

Para conocer el efecto del entrenamiento, se realiza un análisis de la varianza con el factor grupo. Se obtiene un p -valor asociado al estadístico F de 0,709, que es mayor que $\alpha = 0,05$, por lo que se acepta la hipótesis nula que supone iguales a los dos niveles definidos por la variable grupo, no pudiendo encontrar diferencias entre los animales controles y entrenados para la región 4 (figura IV.4.14).

Figura IV.4.14.- Comparación celularidad ($\text{células} / 1000 \mu\text{m}^2$) Región 4



IV.5.- Estudio cualitativo de los cartílagos articular y epifisario, y del compartimento subcondral (material y métodos, pg. 171)

IV.5.1.- Grupo control

Con la finalidad de extraer patrones comunes en relación a las variables cualitativas, realizamos una descripción conjunta de los seis animales del grupo control, reseñando, en su caso, el animal o animales que presentan comportamientos diferentes.

IV.5.1.1.- Cartílago articular

IV.5.1.1.1.- Definición zonal por regiones

A continuación presentamos las características histológicas que permitirán reconocer la presencia o no de las distintas capas, zonas o estratos del cartílago articular. Todo ello será expuesto en una tabla para cada una de las regiones morfofuncionales en que hemos dividido al cartílago articular.

Región I o de menor carga anterior (fotografía 1, anexo I, pg. 173)	
Zona I o tangencial	Es difícil separarlas. Su grosor es similar al que tienen en otras regiones y, en conjunto, ocupan la práctica totalidad del espesor del cartílago y. Desde el tidemark hacia la superficie las células tienen disposición típica de zona II.
Zona II o de transición	
Zona III o radial	No existe disposición celular que permita identificarla.
Interfase III-IV o línea de marea (tidemark)	Existe pero está poco marcada, con menor intensidad que en la región siguiente. Esta débil apetencia tintorial coincide con una disminución generalizada para la SO en la capa subyacente.
Zona IV o mineralizada	Presenta escaso grosor, con una o dos capas de células que tienen tendencia a la formación de grupos isogénicos con disposición paralela a la superficie y compuestos por dos células.

Región 2 o de carga usual anterior (fotografía 2, Anexo I, pg. 173)	
Zona I o tangencial	Presenta dos filas de células aplanadas, con su diámetro mayor paralelo a la superficie y muy próximas entre sí.
Zona II o de transición	Es de menor grosor que su correspondiente en la región 3. Se encuentran grupos isogénicos de dos células, que están separados entre sí y que se orientan siguiendo direcciones paralelas a la superficie articular, de tal manera que las células se sitúan una al lado de la otra y no en todas las direcciones, como suele ser habitual.
Zona III o radial	También presenta menor grosor que en la región 3 pero, aún así, representa la porción más importante del cartilago no mineralizado. Sus células muestran tendencia a la disposición columnar y, debido a la importancia relativa de esta capa, parece como si todo el cartilago no mineralizado adquiriese disposición radial.
Interfase III-IV o línea de marea (tidemark)	Existe un línea de marea en toda la región que es casi siempre doble o triple. La línea más profunda del tidemark limita por debajo a la zona IV, separándola del tejido subyacente.
Zona IV o mineralizada	Está bien definida y sus células se disponen de forma distinta a la región 3: son células aisladas que raramente forman grupos isogénicos y no mantienen disposición radial.

Región 3 o de carga usual posterior (máxima carga) (fotografía 3, Anexo I, pg. 174)	
Zona I o tangencial	Está constituida por una sola fila de células, aisladas y ampliamente separadas entre sí. Estos condrocitos son aplanados, con su diámetro mayor paralelo a la superficie.
Zona II o de transición	Es de mayor grosor que la anterior, es muy celular, con poca cantidad de matriz. Sus condrocitos, redondeados y de mayor tamaño que en la zona anterior, se disponen en 2 o 3 capas y llegan a formar grupos isogénicos.
Zona III o radial	Sus células presentan una disposición claramente radial y representan casi todo el grosor del cartilago, aunque donde existe zona IV disminuye su grosor. La proporción matriz/célula es mayor que en la zona suprayacente y que en la región 2.
Interfase III-IV o línea de marea (tidemark)	En la porción central de esta región no está definido y comienza a hacerse evidente al acercarse a sus extremos anterior y posterior. En la región de transición 3-4 existen múltiples líneas de marea: 2, 3, 4 y, en algunos casos, hasta 6, mientras que en la región de transición 3-2 es simple y, en ocasiones, doble.

Región 3 o de carga usual posterior (máxima carga) (Continuación)	
Zona IV o mineralizada	Sólo en las regiones de transición se cumplen los requisitos para considerar la presencia de una verdadera zona IV. Las células son de menor tamaño que en la capa suprayacente, se encuentran aisladas y con mucha matriz intercelular, con ligera tendencia a la radialización.

Región 4 o de menor carga posterior (fotografía 4, Anexo I, pg. 144)	
Zona I o tangencial	Aunque no existe un patrón común para todos los animales, en la mayoría de los casos puede describirse la presencia de zonas I y II. El grosor relativo de las mismas varía en cada caso. La zona I está formada por una capa de células aplanadas y paralelas a la superficie; la zona II está integrada por 2 o 3 capas de células más redondeadas.
Zona II o de transición	
Zona III o radial	Sólo en dos animales se aprecia una discreta disposición radial de las células en la zona profunda, sin que se pueda considerar una zona III propiamente dicha.
Interfase III-IV o línea de marea (tidemark)	Es múltiple y las líneas están perfectamente definidas.
Zona IV o mineralizada	Es muy delgada, formada por una fila de células hipertróficas.

IV.5.1.1.2.- Características estructurales

Regularidad superficial	La superficie del cartilago articular es lisa en todos los animales, no apreciándose en ella alteración o irregularidad alguna.
Integridad estructural	La continuidad del tejido se conserva en cinco casos, mientras que en el restante (animal número 4) se observan grietas perpendiculares a la superficie en la región de mayor carga, que alcanzan a la zona más profunda y no se acompañan de otras alteraciones.
Aspecto y distribución generales del componente celular	El aspecto y la distribución general de ambos componentes es normal y se corresponde con la edad de los animales. La descripción detallada de los mismos, para cada una de las regiones ya se hizo en el apartado anterior y resulta completada con el estudio de las aptencias tintoriales que se recoge en el apartado siguiente.
Aspecto y distribución generales del componente matricial	Podemos decir que sólo existen variaciones en dos casos: <ul style="list-style-type: none"> - En el animal 1 aparecen grandes espacios sin presencia celular en las zonas I-II de la región 1, sin signos aparentes de necrosis. - En el animal 4 cuyas alteraciones ya han sido descritas.

IV.5.1.1.3.- Apetencias tintoriales de la matriz extracelular

	HFS	HEA
Región 1	Comparada con la región 3 se observa una escasa apetencia por la SO y un predominio del FG en el cartilago no mineralizado. En la zona IV la apetencia por la SO también es menor que en la región 3, sobre todo en las propias líneas del tidemark y en la matriz territorial.	La matriz territorial se tiñe con APA. En la matriz interterritorial predomina la apetencia por el EB en las zonas I y IV y coexiste con el APA en zona II (recuérdese que no existe zona III).
Región 2	El FG predomina en la zona I. En las zonas II y III coexisten, sin diferencias entre la MT y la MIT, las apetencias por la SO y el FG, sin que ninguna de las dos sea intensa ni predominante. En la zona IV la apetencia por la SO es clara, sobre todo en la MT y en el tidemark. Sin embargo su intensidad es menor que en la región 3.	La matriz territorial se tiñe con APA. En la matriz interterritorial predomina el EB en las zonas I y IV, coexiste con el APA en las zonas II y III.
Región 3	La apetencia por la SO tiene su mayor intensidad en la zona más profunda (zona mineralizada). Tiñe también la matriz interterritorial del cartilago no mineralizado y se atenúa progresivamente hacia la superficie, donde hay mayor apetencia por el FG. A medida que nos acercamos a los márgenes de la región, la apetencia por el FG alcanza también a la zona II.	El APA tiñe la matriz territorial de todos los condrocitos, con independencia de la zona estudiada. En la matriz interterritorial, las zonas I, III y IV muestran apetencia intensa por el EB, mientras en la zona II predomina el APA. Sin embargo, en la zona III, a medida que nos acercamos a las regiones de transición, la apetencia por el APA ya no queda restringida a la matriz territorial, si no que también se extiende a la interterritorial.
Región 4	En las zonas I y II existe un predominio absoluto del FG, con ausencia completa de SO. (Es conveniente recordar que no existen zonas III ni IV).	La matriz territorial tiene apetencia por el APA. En la matriz interterritorial predomina el APA en todas las capas, excepto en pequeños espacios de la zona profunda.

IV.5.1.2.- Cartilago epifisario

IV.5.1.2.1.- Características estructurales

Conviene recordar que se trata del tejido presente entre la zona mineralizada del cartilago articular y el hueso subcondral. En general, podemos decir que este tejido se organiza en dos estratos; uno superficial integrado por células separadas y de pequeño

tamaño; otro profundo compuesto por células de gran tamaño y que ocasionalmente forman grupos isogénicos.

Región 1	Se observa una zona de cartilago epifisario, cuyo grosor es mucho menor que en la región siguiente, llegando incluso a desaparecer. De las dos capas en que normalmente se organiza el tejido epifisario de otras regiones, la profunda esta casi ausente y, cuando existe, se localiza en las escasas interdigitaciones entre este tejido y el componente subcondral.
Región 2	Se encuentra una zona de cartilago epifisario de grosor variable. En ella se pueden reconocer dos capas: la más superficial presenta células pequeñas que se distribuyen de forma aislada o en grupos isogénicos, y la más profunda, muy reducida en grosor, está formada por grupos isogénicos con células hipertróficas.
Región 3	Apenas existe cartilago epifisario: sólo hay células aisladas. En los extremos de esta región, donde se produce la transición con las regiones vecinas, adquiere mayor grosor y está constituido por dos capas más delgadas que en la región 2.
Región 4	No existe evidencia de tejido epifisario.

IV.5.1.2.2.- Apetencias tintoriales de la matriz extracelular

Región	HFS	HEA
1	La intensidad por la SO es menor que en la zona IV y se parece a la de las zonas II y III del cartilago articular. (Recuérdese que en la región 3 prácticamente no existe tejido epifisario).	Aunque la matriz muestra apetencia por el EB y el APA, la intensidad de la primera es ligera, mientras que la del segundo predomina. La MT presenta apetencia exclusiva por el APA.
2		La matriz territorial se tinte con APA y, con respecto a la región anterior, en la interterritorial se incrementa la intensidad de la apetencia por el EB. (Recuérdese que en las regiones 3 y 4 prácticamente no existe tejido epifisario).
3		
4	No existe cartilago epifisario.	

IV.5.1.3.- Compartimento subcondral

Región 1	Encontramos una disposición continua del hueso subcondral, de manera que se forma una lámina horizontal de tejido óseo, en la que se interdigita el cartilago. A dicha lámina llegan escasas trabéculas óseas de segunda generación, separadas por grandes espacios ocupados por médula ósea. Las trabéculas de segunda generación, que alcanzan oblicuamente a la lámina ósea subcondral, son ramificaciones de 4 o 5 trabéculas óseas subyacentes, gruesas y de primera generación.
-----------------	---

Región 2	La lámina horizontal de tejido óseo no aparece tan claramente como en la región 1, porque el cartilago se interdigita con mayor profusión. A dicha lámina llegan mayor número de trabéculas óseas de segunda generación y con menor grado de oblicuidad que en la región anterior.
Región 3	En la vecindad de la región 4 hay una placa de hueso subcondral a la que llegan trabéculas de primer orden ("pilares") en disposición perpendicular. Esta situación se va modificando a medida que nos acercamos a la región 2, pues la placa deja de ser continua, porque está interrumpida por osteoide, que se encuentra formando el eje de las trabéculas y que es más abundante en los márgenes de la región, sobre todo en el anterior. Estas trabéculas suelen ser de segundo o tercer orden y se encuentran en número muy elevado, tomando el aspecto de una "masa trabecular".
Región 4	Hay una fina lámina de hueso horizontal paralela a la superficie. Prácticamente no existen trabéculas y la médula ósea está separada del cartilago por esta fina capa de hueso.

IV.5.2.- Grupo entrenado

En la presentación de los resultados hemos optado por la utilización de tablas para que el lector ubique con más facilidad la región y la zona que se describen en cada momento. Además, al figurar en el mismo cuadro la información referente a distintas zonas, regiones e incluso animales, las comparaciones se pueden establecer de manera más sencilla.

Siempre que fue posible, extrajimos patrones comunes en la descripción de las variables, realizando un tratamiento conjunto de los 6 animales del grupo entrenado, bajo el epígrafe de "Descripción general". Cuando esto no fue posible o algún individuo escapaba a este comportamiento común, se recogió la información bajo el epígrafe de "Descripciones particulares".

IV.5.2.1.- Cartilago articular

IV.5.2.1.1.- Definición zonal por regiones

Región 1 a de menor carga anterior (fotografía 5. Anexo I, pg. #6)	
Descripción general	
<p>Se consideran juntas las tres zonas porque en ningún caso fue posible identificarlas separadamente. Con las salvedades que se describen a continuación, podemos decir que las células tienden a ser planas y con disposición horizontal en las zonas más superficiales, y que se hacen más redondeadas y sin orientación definida en los estratos subyacentes. En algunos casos se observa cierta tendencia a la radialización en los estratos más profundos.</p> <p>Con respecto a los controles, tienen mayor disposición horizontal en el estrato superficial y orientación peor definida en las porciones subyacentes.</p> <p>Con respecto a la región 3 del mismo grupo, no se identifican las zonas.</p>	
Descripciones particulares	
Zonas I, II y III	<p>Animal 7.- No es posible identificarlas aisladamente. Es de aspecto muy celular, con pocas células típicamente aplanadas, la mayoría son células algo más redondeadas, con núcleos muy teñidos. En la porción superficial se orientan paralelas a la superficie. Por debajo se disponen sin una orientación definida, aunque en las porciones más profundas se aprecia cierta tendencia a la radialización. Así se alcanza la zona profunda, por lo tanto, no existe una zona III claramente definida.</p>
	<p>Animal 8.- Se diferencia del anterior en que las células se disponen sin orientación definida, mientras los grupos isogénicos se sitúan horizontalmente.</p>
	<p>Animal 9.- Encontramos dos o tres capas con células aplanadas y paralelas a la superficie, aunque muchas de ellas están hipertrofiadas y con un aspecto más redondeado. Al contrario de los animales anteriores no existe evidencia alguna de radialización celular y por tanto de zona III.</p>
	<p>Animales 10, 11 y 12.- No se puede identificar estratificación alguna. Desde la superficie a la profundidad encontramos muchas células redondeadas, muy abundantes en la mitad superficial y más escasas y con menor tamaño en la mitad inferior.</p>
Descripción general	
Tidemark	<p>En todos los animales entrenados se encuentra un tidemark bien definido, en ocasiones, doble o triple.</p> <p>Con respecto a los controles, está mejor definido.</p> <p>En la región 3 del mismo grupo, no existe.</p>

Región 1 o de menor carga anterior (continuación)	
Zona IV	Descripción general
	<p>Es delgada en todos los casos y esta formada por 1 o 2 capas de células de tamaños y con orientaciones distintas</p> <p>Con respecto a los controles, presenta menor uniformidad en la forma y tamaño celulares, no forma grupos isogénicos y carece de disposición horizontalizada.</p> <p>La región 3 del mismo grupo carece de zona IV.</p>
Zona IV	Descripciones particulares
	<p>Animales 7 y 12.- Es muy delgada, con grupos isogénicos dispuestos en una o dos hileras horizontales. Dichos grupos están constituidos por 2 a 5 células en el primer animal y solamente 2 en el segundo.</p> <p>Animal 8.- En el animal número 8 se encuentran escasas células con características típicas de esta zona, mientras que abundan células hipertróficas de gran tamaño que recuerdan a las del cartílago epifisario.</p> <p>Animales 9, 10 y 11.- Encontramos una o dos capas de células hipertrofiadas, horizontalizadas en el animal 9 y sin orientación predominante y formando, a veces, grupos isogénicos en los animales 10 y 11.</p>

Región 2 o de carga usual anterior (fotografía 6, Anexo I, pg. 170)	
Zona I	Descripción general
	<p>Las células, algo redondeadas, están dispuestas en una o dos capas.</p> <p>Con respecto a los controles, las células son menos aplanadas.</p> <p>Con respecto a la región 3 del mismo grupo, las células están más separadas.</p>
Zona I	Descripciones particulares
	<p>Animales 7, 9, 10 y 12.- Las células son especialmente redondeadas, más gruesas y más cercanas entre sí.</p>
Zona II	Descripción general
	<p>Presenta un grosor reducido. Las células son de un tamaño pequeño y constituyen grupos isogénicos de 2 a 4 células prácticamente en la totalidad de la región.</p> <p>Con respecto a los controles, los grupos isogénicos no presentan una orientación paralela a la superficie articular.</p> <p>Con respecto a la región 3 del mismo grupo, las células son de menor tamaño.</p>
Zona II	Descripciones particulares
	<p>Animales 8 y 11.- Es similar a la de los pertenecientes al grupo control.</p>

Región 2 o de carga usual anterior (continuación)	
Zona II	Descripción general
	<p>Es gruesa y con células en disposición columnar o radiada. Representa la porción más importante del cartilago no mineralizado.</p> <p><i>Con respecto a los controles</i>, es más gruesa y la disposición radiada es más evidente.</p> <p><i>Con respecto a la región 3 del mismo grupo</i>, presenta un grosor más reducido, con disposición celular claramente radial.</p>
	Descripciones particulares
	<p>Animales 8 y 11.- La disposición radiada es menor que en los demás.</p> <p>Animales 10 y 12.- Aparecen bastantes espacios sin presencia celular o con células muertas, que alternan con porciones normales (fotografía 9, Anexo I, pg. I/9).</p>
Tidemark	Descripción general
	<p><i>Con respecto a los controles</i>, está menos definido y, aunque es múltiple, las líneas se presentan más separadas y menos nítidas.</p> <p><i>En la región 3 del mismo grupo</i>, no existe.</p>
	Descripciones particulares
	<p>Animales 8, 9 y 11.- En ellos la línea de marea más superficial está mejor definida.</p>
Zona IV	Descripción general
	<p>Es gruesa, llegando a representar la mitad del grosor del cartilago, y con importante proliferación celular.</p> <p><i>Con respecto a los controles</i>, es más gruesa y con mayor proliferación celular.</p> <p><i>Con respecto a la región 3 del mismo grupo</i>, también es ligeramente más gruesa.</p>
Región 3 o de carga usual posterior (máxima carga) (fotografía 7, Anexo I, pg. I/7)	
Zona I	Descripción general
	<p>Está formada por una o dos filas de células. Los condrocitos son aplanados (animales 8 y 9), o algo más redondeados (animales 7 y 10), pero siempre con su diámetro mayor paralelo a la superficie. En el animal número 8 existe un número importante de células muertas, lo que hace que las células vivas están más separadas entre sí.</p> <p><i>Con respecto a los controles</i>, está formada por una capa más de células que se encuentran más próximas entre sí.</p>

Región 3 o de carga usual posterior (continuación)	
	Descripciones particulares
	<p>Animal 11.- No se identifica el estrato tangencial, las células existentes son ovaladas, hipertroficadas y muy distantes entre sí.</p> <p>Animal 12.- Presenta un aspecto similar a los animales del grupo control (una fila de células planas de distribución típica).</p>
	Descripción general
	<i>Con respecto a los controles, las células están separadas por mayor cantidad de matriz.</i>
	Descripciones particulares
Zona II	<p>Animal 7.- Esta zona es de menor grosor que en los controles y aparentemente presenta menos células con más cantidad de matriz intercelular.</p> <p>Animales 8.- Es difícil diferenciarla del estrato superficial porque las células de la zona I tienen cierto grado de hipertrofia. Existen grupos isogénicos pequeños, distantes entre sí y más separados por matriz que en los controles, pero hacia la profundidad desaparecen los grupos isogénicos y se encuentran células pequeñas y redondeadas con una distribución aparentemente anárquica.</p> <p><i>[En estos animales (7 y 8) la capa II está muy adelgazada como consecuencia del predominio de la zona III subyacente.]</i></p> <p>Animales 9 y 10.- Existen grupos isogénicos pequeños, distantes entre sí y más separados por matriz que en los controles, constituyendo una zona II perfectamente definida y difícil de discernir su límite con la "supuesta" zona III.</p> <p>Animal 11.- Esta zona queda prácticamente reducida a una o dos hileras de células agrupadas en parejas y por debajo se continúa con la porción más superficial de una zona III muy alterada.</p> <p>Animal 12.- Se aprecian dos filas de células. La primera contiene células de aspecto más aplanado y la segunda está formada por grupos isogénicos pequeños, con células redondeadas y más separadas entre sí que en los controles.</p>
	Descripción general
Zona III	<p>Aún con ciertas variaciones entre ellos, la zona III predomina en el grosor total del cartilago. Hacia la porción anterior existen típicas columnas verticales (disposición claramente radial), con células finalizando procesos mitóticos. Hacia la porción posterior, y en su mitad profunda, se aprecia una desestructuración importante, que se describirá más adelante. El animal número 9 tiene una disposición celular desordenada que se extiende por delante del defecto estructural.</p> <p><i>Con respecto a los controles, se diferencian fundamentalmente por la actividad mitótica y por la presencia de alteraciones estructurales.</i></p>

Región 3 o de carga usual posterior (continuación)	
	Descripciones particulares
	Animales 8 y 10.- Las células son redondeadas, individuales (rara vez forman un grupo isogénico) y no conservan el patrón radial. Este aspecto "desordenado", predomina en el grosor total del cartílago. También aparecen alteraciones estructurales, más llamativas que en los animales anteriores, que se describen en el siguiente apartado.
	Descripción general
Tidemark	El tidemark sólo aparece en las regiones de transición y es múltiple. <i>Con respecto a los controles</i> , presenta una multiplicidad menor.
	Descripciones particulares
	Animales 8 y 10.- No existe línea de marea en toda la amplitud de la región.
	Descripción general
Zona IV	Es difícil hablar de una verdadera zona IV porque no existe tidemark. El grosor es pequeño, a expensas de la zona III suprayacente. Las células, están aisladas, son de menor tamaño que en la zona III pero presentan poca matriz intercelular. <i>Con respecto a los controles</i> , allí donde existe es de menor grosor y la matriz intercelular es más escasa.
	Descripciones particulares
	Animales 8 y 10.- La capa de cartílago mineralizado es más delgada que en el resto de los animales.
Región 4 o de menor carga posterior (fotografía 5, Anexo 1, pg. 17)	
	Descripción general
Zona I	Hay una o dos filas de células planas ligeramente hipertroficadas, con frecuentes grupos isogénicos de 2 células. <i>Con respecto a los controles</i> , es más gruesa y con células de mayor tamaño. <i>En la región 3 del mismo grupo</i> , las células están más hipertrofiadas.
	Descripción general
Zona II	Se puede identificar en todos los animales con presencia de grupos isogénicos. <i>Con respecto a los controles</i> , su presencia es más constante, con mayores grosor y cantidad de grupos isogénicos. <i>Con respecto a la región 3 del mismo grupo</i> , tiene un grosor relativo mayor y menor cantidad de matriz intercelular.

Región 4 o de menor carga posterior (continuación)	
	Descripciones particulares
	Animales 10 y 11.- Al carecer de zona III, llega hasta el tidemark.
	Descripción general
Zona III	Sólo está presente en cuatro animales, con un débil intento de radialización. <i>Con respecto a los controles</i> , aparece en mayor número de animales pero con un aspecto similar. <i>Con respecto a la región 3 del mismo grupo</i> , aparece con menos frecuencia, con menor definición y con menor grosor relativo (recuérdese que en la región III estaba muy bien definida y representaba la mayor parte del grosor del cartilago).
	Descripción general
Tidemark	Es múltiple y está bien definido. <i>Con respecto a los controles</i> , es similar. <i>En la región 3 del mismo grupo</i> , no existe.
	Descripción general
Zona IV	Está formada por una o dos filas de células hipertróficas que forman grupos isogénicos <i>Con respecto a los controles</i> , presenta una capa más de células y forman grupos isogénicos. <i>En la región 3 del mismo grupo</i> , no existe o es muy delgada.
	Descripciones particulares
	Animal 7.- En este caso está radializada. Animal 12.- Casi no hay células.

IV.5.2.1.2.- Características estructurales

Regularidad superficial	
	Descripción general
	La superficie articular es lisa en casi todos los animales, a pesar de la presencia de abultamientos en algunos.
	Descripciones particulares
	Animal 7.- Se observan sendos abultamientos en las regiones de transición (límites anterior y posterior de la región 3). Da la impresión de que el hueso subcondral se acerca hacia la superficie, formando un ángulo situado justamente bajo el abultamiento (fotografía 10, Anexo I, pg. 1/9). Al mismo tiempo, aparenta un aplanamiento de la región 3 y provoca una angulación

Regularidad superficial (continuación)

mayor en el lugar de continuidad con las regiones vecinas, rompiendo la suavidad de la curva del perfil condileo

Animales 9 y 12.- También presentan abultamientos, pero de menor intensidad.

Animal 11.- Presenta algunas irregularidades en la transición de las regiones 3 y 4.

Integridad estructural

Descripción general

En dos animales (8 y 11) se observan grietas o dehiscencias perpendiculares a la superficie que se encuentran inmersas en la zona III de las porciones anterior y posterior de la región 3, coincidiendo con los lugares en los que se aprecia una importante deplección de proteoglucanos.

Con respecto a los controles, la integridad estructural esta alterada.

Descripciones particulares

Animal 8.- Las fisuras son de escasa longitud (entre una y dos veces el diámetro de los condrocitos vecinos) y en ningún caso alcanzan la superficie. (fotografía 11, Anexo I, pg. I/10).

Animal 11.- Las grietas se localizan debajo de las irregularidades superficiales en la transición de las regiones 3 y 4.

Defectos estructurales

Descripción general

En todos los animales se aprecian defectos estructurales de características similares, localizados en la porción profunda de la zona III correspondiente a la región de máxima carga. La extensión de los defectos y la intensidad de sus manifestaciones son distintas para cada animal. Estos defectos consisten en: una pérdida de apetencia matricial por la SO, lo que hace más visibles las fibras de colágeno de aspecto ondulado; la aparición de grandes espacios acelulares, en algunos casos debidos a necrosis celular (fotografía 12, Anexo I, pg. I/10); y una desorganización de la disposición celular.

En los controles, no existen.

Descripciones particulares

Animales 7.- Se localizan en la zona profunda de la región 3 (cerca de la región 2 y en la vecindad de la región 4, aunque más intensamente en esta última), por encima del tidemark (fotografía 12, Anexo I, pg. I/10).

Animales 8 y 10.- Las células son redondeadas, individuales (rara vez forman un grupo isogénico) y no conservan el patrón radial. Este tejido "desordenado", predomina en el grosor total del cartilago. Los defectos aparecen en toda la extensión de la zona profunda de la región 3 (fotografía 13, Anexo I, pg. I/11). Se aprecia deplección de PG y muerte celular, siendo más intensas en la región de transición 3-4, incluso por debajo del cartilago mineralizado. Las fibras de colágeno tienen una disposición multidireccional (no radial) y muestran apetencia por el

Defectos estructurales (continuación)

APA. En general toda esta región 3 es de aspecto friable. La intensidad de las manifestaciones es menor en el animal 10.

Animal 9.- Las alteraciones afectan también la mitad posterior de la región 3, y el tejido presenta ausencia prácticamente total de células.

Animal 11.- Las alteraciones de la matriz afectan a la mayor parte del grosor del cartilago en la región de transición 3-4 y la mitad posterior de la región 3.

Animal 12.- Las alteraciones son intensas y se ubican en la transición de las regiones 3 y 4, sin llegar a afectar a la región 3.

Aspecto y distribución generales de los componentes celular y matricial

Descripción general

Entre las alteraciones encontradas figuran la aparición de espacios sin células, cierto desorden en la disposición celular, con grados diferentes según el animal.

Descripciones particulares

Animal 7.- En todas las zonas encontramos lugares con ausencia de células, aunque predominantemente en las capas II y III. Los núcleos celulares aparecen más teñidos con hematoxilina que en los animales controles, son más cromáticos.

Animal 8.- Existe un número importante de células redondeadas y de gran tamaño (hipertróficas), de disposición desordenada e independientes (no dispuestas en grupos isogénicos), localizadas en toda la extensión de la región 3, en las zonas profundas.

Animal 9.- Ocurre lo mismo que en el animal 8, pero con una intensidad menor. Hacia la parte anterior de la región 3, encontramos un pequeño desorden de la distribución celular, similar, aunque en mucho menor grado que en el animal 8. Por delante se vuelve a encontrar la disposición radial típica de la zona III.

IV.5.2.1.3.- Apetencias tintoriales de la matriz extracelular

	HPS	HEA
Región 1	<p>La apetencia por la SO es similar en casi todo el cartilago, aunque más intensa en el tide-mark y en la matriz territorial de la zona IV</p> <p>Con respecto a los controles, la apetencia por la SO es mucho mayor.</p> <p>Con respecto a la región 3 del mismo grupo, ligeramente menor.</p>	<p>Las apetencias tintoriales son intensas y se observa una redistribución: la matriz interterritorial de las zonas I y II están muy teñidas con APA.</p> <p>Con respecto a los controles, hay mayor intensidad de la coloración y una redistribución: el APA alcanza la zona I, que en los controles se tife con EB.</p> <p>Con respecto a la región 3 del mismo grupo, aumenta la apetencia por el APA en la matriz interterritorial de las zonas I-II.</p>

	HFS	HEA
Región 2	<p>Presenta la máxima intensidad en la línea de marea y en la matriz territorial de la zona IV</p> <p>Con respecto a los controles, la apetencia por la SO tiene la misma distribución pero es más intensa.</p> <p>Con respecto a la región 3 del mismo grupo, es similar en el cartilago no mineralizado (recuérdese que en la región 3 no existe cartilago mineralizado).</p>	<p>En la mitad próxima a la región 3, el EB tñe predominantemente las zonas I, III y IV. El APA tñe las matrices territorial e interterritorial de la zona II. En cambio, en la mitad próxima a la región 1, el APA se encuentra circunscrito a la matriz territorial y el resto presenta una apetencia clara por el EB.</p> <p>Con respecto a los controles, es más intensa la coloración y la porción anterior de esta región no conserva la apetencia generalizada por el APA.</p> <p>Con respecto a la región 3 del mismo grupo, sólo se diferencia en una apetencia ligeramente menor por el EB que es más llamativa en la zona II.</p>
Región 3	<p>La apetencia por la SO está redistribuida (llega hasta la superficie) y es muy intensa. Se encuentra una disminución importante en los defectos estructurales antes referidos.</p> <p>Con respecto a los controles, alcanza niveles más superficiales y es mucho más intensa.</p>	<p>Llama la atención el incremento generalizado de la apetencia por el EB. El APA queda restringido a la matriz territorial. Las irregularidades superficiales de las regiones de "transición" muestran apetencia exclusiva por el EB en la matriz que corresponde a la zona I. En aquellos lugares en los que existe una deplección de PG, con matriz deteriorada y fibras desnudas y onduladas, existe una apetencia clara por el APA.</p> <p>Con respecto a los controles, la apetencia de la MT por el APA está más reducida en extensión y la de la MIT por el EB muy incrementada.</p>
Región 4	<p>La distribución de la SO no es uniforme y tiene menor intensidad en el cartilago no mineralizado.</p> <p>El FG sólo se manifiesta en la zona I.</p> <p>Con respecto a los controles, la apetencia por la SO está muy aumentada.</p> <p>Con respecto a la región 3 del mismo grupo, se encuentra una apetencia similar</p>	<p>Predomina el EB y el APA está restringido a la matriz territorial de todas las células vivas y a la interterritorial de la zona II.</p> <p>Con respecto a los controles, hay mayor intensidad de la coloración y una redistribución del EB, que tñe prácticamente toda la MIT del cartilago. El APA queda restringido a la MT, con escasa presencia en la MIT de la capa II.</p> <p>Con respecto a la región 3 del mismo grupo, el APA tiene mayor presencia en la MIT de la zona II.</p>

IV.5.2.2.- Cartílago epifisario

IV.5.2.2.1.- Características estructurales

	Descripción general
	No es posible identificar características comunes a todos los animales.
Región 1	Descripciones particulares
	Animal 7.- Está presente de manera constante, con mayor grosor que en los controles y con las dos capas bien definidas (recuérdese que en los controles no existía siempre y la capa profunda, cuando aparecía, quedaba restringida a las escasas interdigitaciones). Llama la atención la disposición de las células en hileras paralelas a la superficie (fotografía 14, Anexo I, pg. I/11).
	Animal 8.- El grosor es menor que en los controles y las células se disponen en las dos capas típicas pero con una orientación claramente horizontal.
	Animales 9 y 12.- Está muy reducido, se limita a la profundidad de las interdigitaciones. Prácticamente no existe capa superficial y las células de la capa profunda no están horizontalizadas, por lo que guarda parecido con los animales controles.
	Animal 10.- Existe tejido epifisario en toda la región, formado por dos capas y con predominio de la capa profunda, cuyas células, hipertróficas, carecen de una orientación predominante.
	Animal 11.- Se parece al 10 pero no es posible la discriminación en capas. Las células incrementan su tamaño desde la superficie hacia la profundidad y llama la atención la enorme actividad proliferativa (fotografía 15, Anexo I, pg. I/12).
Región 2	Descripción general
	Por debajo de la zona IV se observa una zona de cartílago epifisario, con mínimas variaciones entre los distintos animales. Está constituida por dos capas: la más superficial, presenta numerosas células pequeñas (muchas más que la profunda) que se distribuyen de forma aislada o en grupos isogénicos; las más profunda está formada por grupos isogénicos con células hipertróficas. <i>Con respecto a los controles, presenta mayor grosor.</i>
Región 3	Descripción general
	El cartílago epifisario aparece solamente en los lugares de transición con las regiones vecinas, donde su aspecto es variable. <i>Con respecto a los controles, es similar.</i>
	Descripciones particulares
	Animales 7, 9, 11 y 12.- Las células, hipertróficas y escasas, tienen una orientación radializada. Hacia la porción anterior desaparece la radialización en el animal 12 y en los animales 7 y 11 se encuentran células de menor tamaño (típicas de capa superficial) y escasas.

Animales 8 y 10.- Este tejido es prácticamente inexistente.	
Región 4	Descripción general
	No existe tejido epifisario en esta región. <i>En los controles, tampoco existe.</i>

IV.5.2.2.- Apetencias tintoriales de la matriz extracelular

Apetencias tintoriales		
Región	HFS	HEA
1	La intensidad por la SO es menor que en la zona IV y se parece a la de las zonas II y III del cartilago articular. (Recuérdese que en la región 3 prácticamente no existe tejido epifisario). Es muy similar a los <i>controles</i> .	El APA predomina en la MT de todas las regiones, mientras que en la MIT coexiste con el EB. La apetencia por el EB es más intensa en las regiones 1 y 4. <i>Con respecto a los controles</i> , la MIT presenta mayor apetencia por el EB.
2		
3		
4		

IV.5.2.3.- Compartimento subcondral

Descripción general	
Región 1	Prácticamente no existe lámina de tejido óseo horizontal. Las trabéculas alcanzan el cartilago articular son delgadas y casi sin ramificaciones. <i>Con respecto a los controles</i> , no existe disposición continua del hueso, no se identifica una lámina ósea horizontal y las trabéculas son más delgadas. <i>Con respecto a la región 3</i> , las trabéculas son más gruesas y menos frecuentes.
	Descripción general
Región 2	El compartimento subcondral inmediatamente subyacente al cartilago de la región 2 tiene un aspecto similar al de la región 3 de los <i>controles</i> . No existe lámina de tejido horizontal.
	Descripciones particulares
<p>Animales 7 y 9.- Las trabéculas llegan directamente al cartilago articular. Son más finas, más frecuentes y menos ramificadas que en los controles. En consecuencia, hay mayor número de espacios ocupados por médula ósea y menor continuidad del hueso. El grado de osificación es mayor en el animal 9.</p> <p>Animales 8, 10, 11 y 12.- Las trabéculas no alcanzan el cartilago articular directamente. Entre ambos se encuentra gran cantidad de hueso y osteoide interdigitados con el cartilago epifisario. El grado de osificación es mayor en el animal 11.</p>	

Descripción general	
Región 3	Cambia la arquitectura con respecto a los <i>controles</i> : las trabéculas tienen una disposición más radial, más delgada, más alargada y menos ramificada. La médula ósea, que se disponía en forma de pequeñas lagunas, ahora se encuentra formando "regueros" perpendiculares a la superficie y paralelos entre sí.
	Descripciones particulares
Región 4	Animales 7, 8, 11 y 12.- Las trabéculas tienen una disposición perpendicular en la porción posterior y más plexiforme en la porción anterior. Animales 9 y 10.- Las trabéculas son de orden secundario y terciario, con más radialización y mejor definición.
	Descripción general
	Se limita a una lámina ósea fina de disposición paralela a la superficie, similar a la de los <i>controles</i> .

IV.5.3.- Comparación entre grupos

No consideramos necesario realizar esta comparación en un apartado propio porque, como se puede comprender, para describir y valorar los hallazgos en el grupo entrenado se ha tenido que recurrir continuamente a la comparación con las características del grupo control, consideradas como patrones de normalidad.

V.- Discusión

V.- Discusión

En los últimos tiempos el deporte, y en general la actividad física, han adquirido una notable popularidad. Por ello, asistimos a un incremento considerable de su práctica, aunque la finalidad que se persigue pueda llegar a ser bien distinta. En algunos casos el ejercicio se convierte en la actividad profesional del individuo y su objetivo último es la consecución del éxito deportivo. A este fin se llega a supeditar todo lo demás, incluso, en ocasiones, la salud del sujeto. En el extremo contrario se encontrarían todas aquellas personas que realizan ejercicio para conservar o mejorar su estado de salud. Entre ambas opciones cabrían todo tipo de motivaciones.

Hasta hace relativamente poco tiempo, el deporte y la actividad física se consideraban elementos de un estilo de vida sana, sin llegar a pensar que pudiese generar algún perjuicio. En la actualidad, cada vez son más los datos que demuestran que el entrenamiento, cuando es excesivo puede, no sólo no aumentar el estado de salud, si no todo lo contrario, dañarlo.

Como en muchas otras actividades de la vida, la bondad o la maldad del ejercicio sistemático no son cualidades intrínsecas a él, más bien dependen de su forma de utilización. Podríamos decir, sin temor a equivocarnos, que la práctica de ejercicio en su justo término es beneficiosa. Sin embargo, definir en qué consiste este "justo término" se antoja una tarea harto complicada. Resulta muy difícil establecer qué ejercicio es saludable, con qué intensidad, con qué frecuencia, etc. Estas respuestas, aún en caso de obtenerse, no podrían generalizarse, por cuanto no serían aplicables a la totalidad de los individuos.

Podemos concluir afirmando que el ejercicio físico es una práctica generalizada que facilita una mayor longevidad pero, al mismo tiempo, su abuso o mal uso puede causar, entre otras, enfermedades del aparato locomotor que involucran al cartilago articular.

En nuestro caso concreto, teníamos especial interés por averiguar los efectos de un ejercicio de carrera estándar continua y uniforme sobre el cartilago articular. Desde siempre, se ha aceptado, con o sin fundamento, que el paso del tiempo y un uso abusivo de las articulaciones son elementos que conducen a una degeneración de la superficie articular. En este sentido, una práctica intensa de ejercicio físico sistematizado en la juventud, que fuese suficiente para provocar una sobrecarga de las articulaciones, habría de conducir a cambios degenerativos del cartilago articular.

Para abordar el estudio de las repercusiones del entrenamiento sobre el cartilago articular, elegimos ratas, animales manejables, es decir, que su tamaño los hiciese susceptibles de entrenarse en el tapiz rodante del que dispone nuestro laboratorio. En cuanto a su edad, preferimos utilizar animales muy jóvenes porque, además de presentar un grado mayor de adaptación de sus tejidos a los cambios mecánicos y ser menos vulnerables a la degeneración inducida por estrés físico [SÄÄMÄNEN y cols., 1988], nos permitiría comprobar los efectos del entrenamiento sobre su crecimiento.

V.1.- Patrón de crecimiento

La ausencia de vasos sanguíneos y linfáticos es una característica del cartilago articular que en otro tiempo sugirió una cierta desconexión del resto del organismo y que, unido a la aparentemente baja actividad celular, condujo a considerarlo como un tejido inerte, desconectado de resto del organismo [MANKIN, 1974]. Sin embargo, en la actualidad esa concepción ha cambiado. GREILING y cols., en 1986, establecieron el concepto de "*sistema sinovial*", integrado por *el cartilago articular, la membrana sinovial y la sinovia*, sobre la base de que ninguno de estos componentes puede considerarse funcionalmente independiente de los demás. En este sentido, el sistema sinovial es la diana de todas las incógnitas que probablemente esconden las claves sobre la salud y la enfermedad articulares. Sus interacciones y los mecanismos fisiopatológicos que las condicionan son el objetivo de la gran mayoría de las investigaciones actuales.

Considerando al cartilago articular integrado en un conjunto funcional mayor, y en absoluto aislada del resto del organismo, parece razonable que al estudiar los efectos generales del ejercicio sistemático sobre el cartilago articular, se tengan en cuenta las repercusiones sobre el individuo, pues el cartilago no será ajeno a ellas. Esta concepción global del problema nos permitirá analizar el comportamiento del cartilago articular desde una dimensión integral del individuo, facilitando la contextualización y la interpretación adecuada de los hallazgos obtenidos.

En nuestro estudio, los animales entrenados presentaron un crecimiento menor que los animales del grupo control. La alteración del crecimiento afectó a todas las variables cuantificables: la dimensión corporal (longitudes corporal y femoral menores) y la composición corporal (menor peso).

Teniendo en cuenta que nuestro estudio va dirigido al cartilago articular de la rodilla, convendría matizar que, a pesar de que los fémures de los animales entrenados

fueron de menor tamaño que los de los animales controles, no se apreciaron diferencias significativas en las dimensiones de los cóndilos. Parece como si la alteración del crecimiento afectase más a las diáfisis que a las epífisis óseas, y más al crecimiento en longitud que en anchura.

Los estudios sobre la ingestión de comida y bebida se consideraron, a priori, como una información complementaria para valorar la nutrición de los animales e interpretar su posible repercusión sobre el crecimiento. Parece lógico pensar que cuanto mayor sea el gasto energético del individuo, mayores habrían de ser sus ingresos calóricos. Sin embargo, en nuestro caso ha ocurrido lo contrario, los animales sometidos a entrenamiento ingirieron menos comida y bebida que los controles, siempre que consideremos los valores absolutos. En cambio, si relativizamos estos datos, relacionando la comida ingerida con el peso del animal ($\text{g de comida/g peso animal}$), no encontramos diferencias significativas entre animales controles y entrenados.

Parece como si los animales entrenados sufriesen un retraso del crecimiento al comienzo del entrenamiento, momento en el que también comieron menos y, a partir de ahí, aunque las diferencias no sean significativas, proporcionalmente ingieren más comida. Se podría entender que al principio existe un sobreentrenamiento y que, pasados los momentos iniciales, los animales consiguen adaptarse, aunque no lleguen a recuperar los niveles basales de los animales controles.

La observación de que existió un sobreentrenamiento inicial podría explicarse porque la intensidad del ejercicio (velocidad de la carrera) se mantuvo constante todo el periodo de entrenamiento, mientras que el tamaño de los animales fue incrementándose a lo largo del tiempo. Estas circunstancias provocaron que al comenzar el entrenamiento, los animales de pequeño tamaño, tuvieran que hacer grandes esfuerzos para mantenerse sobre el tapiz rodante, mientras que al final, cuando los animales eran más grandes, el esfuerzo resultaba considerablemente menor. Por consiguiente, la dominancia o preponderancia de la ruta metabólica utilizada en cada caso sería distinta. En contra de esta hipótesis, se podría argumentar que, aparentemente, el nivel de fatiga de los animales entrenados no fue mayor que el de los del grupo control, porque su actividad motora espontánea fuera del entrenamiento no parecía distinta. Si bien es cierto que este extremo, al no constituir un objetivo del trabajo, no se cuantificó.

Probablemente hayan sido las exigencias al comienzo del entrenamiento, concretamente en la segunda semana, las responsables de las alteraciones del crecimiento y de la alimentación. La recuperación o no de estos retrasos dependería de la reversibilidad, no de los trastornos inicialmente causados, y esto se escapa de

nuestros propósitos.

Podemos concluir que la carga del entrenamiento llevado a cabo es perniciosa para el crecimiento normal, y aventurarnos a sospechar una afectación de efectos similares en el cartilago articular.

Una vez asumida la importancia de las características del ejercicio, valoradas desde la perspectiva y las condiciones del individuo que lo realiza, y de las repercusiones generales que provoca, comprobamos que en las investigaciones referidas a sus efectos sobre el cartilago, llama la atención la ausencia de datos relevantes para establecer las condiciones y el tipo de entrenamiento al que son sometidos los animales experimentales. El entrenamiento excesivo, la práctica de ejercicios extenuantes, la adaptación escasa o insuficiente al ejercicio físico y el estrés psicológico del entrenamiento, son problemas que se deberían considerar de acuerdo con las circunstancias individuales, mediante un cálculo correcto de factores tan importantes como el volumen y la intensidad de las cargas, así como de su frecuencia de aplicación. La enorme variabilidad de estos parámetros en la bibliografía existente, permite que resultados aparentemente contradictorios adquieran mayor sentido al interpretarlos de acuerdo con el protocolo de entrenamiento.

El cartilago articular recubre la superficie donde los elementos óseos se ponen en contacto al constituirse la articulación móvil. Clásicamente considerado como un cartilago permanente y, por su aspecto macroscópico, apellidado hialino, el cartilago articular forma una capa cuyo grosor, al igual que su estructura y la proporción de sus elementos constituyentes, varían de un individuo a otro, de una articulación a otra y aún dentro de una misma articulación. Está constituido por un componente celular, relativamente escaso, que se distribuye en una matriz predominante y cuya arquitectura corresponde a los mismos principios de todas las matrices extracelulares: una red colágena a la que se anclan o en la que permanecen atrapados otros componentes de la matriz, tales como los proteoglucanos. La gran hidratación de estos últimos y las interacciones recíprocas que establecen con el componente colágeno son las responsables de las propiedades biomecánicas que hacen del cartilago articular un material viscoelástico óptimo para soportar las presiones articulares. Descansa sobre una plataforma ósea denominada **hueso subcondral**, de manera que parece existir una continuidad entre las matrices de ambos tejidos, y está desprovisto de pericondrio, ofreciendo una superficie articular desnuda y muy lisa que permanece bañada por el líquido sinovial.

El cartilago articular es un tejido estructuralmente "diseñado" por y para el movimiento, ya que la nutrición de sus células se realiza mediante la circulación de nutrientes a través de su matriz que, fundamentalmente proceden del líquido sinovial, aunque en los animales jóvenes también lo hacen desde el compartimento subcondral [McKIBBIN y HOLDSWORTH, 1966, 1967]. Esta circulación de sustancias hacia y desde la células es posible gracias al mecanismo de extrusión-imbibición que provocan en la matriz las presiones generadas por el propio movimiento articular.

El interés por el comportamiento del cartilago conduce, obligadamente, al estudio de sus características en condiciones de normalidad que, en la actualidad, constituyen un importante objetivo de la investigación en este campo. Los trabajos dedicados al estudio de la respuesta del cartilago, ante diferentes tipos de lesiones y patologías, son más numerosos que los dedicados al estudio de su morfología y su fisiología, que continúan sin conocerse en todos sus aspectos. Por lo tanto, comenzaremos por discutir nuestras observaciones sobre el comportamiento del cartilago en condiciones de normalidad, para posteriormente, comentar como resulta afectada por el entrenamiento.

V.2.- División del cartilago articular en regiones morfofuncionales distintas

El cartilago articular es un tejido anisótropo, y la existencia de cargas mecánicas de distinta naturaleza e intensidad en diferentes lugares justifica su división en diferentes regiones que nosotros denominamos "morfofuncionales", haciendo referencia a que sus características morfológicas dependen o están íntimamente relacionadas con sus demandas o solicitaciones funcionales.

Desgraciadamente, no se tiene un conocimiento exacto de la distribución de cargas en la articulación de la rodilla. Los estudios experimentales sobre articulaciones humanas [AHMED y cols., 1983; BROWN y SHAW, 1984] muestran que el compartimento patelofemoral y las porciones centrales de los cóndilos femorales son lugares particularmente sometidos a un esfuerzo aumentado durante los movimientos. Las fuerzas de tensión del músculo cuádriceps femoral crean cargas de compresión y cizallamiento entre la superficie troclear del fémur y la patela. Los mismos principios básicos serían aplicables a la rodilla de otras especies y, en consecuencia, la superficie patelar del fémur y las zonas centrales de los cóndilos femorales serán probablemente los lugares que soportan mayor carga mecánica durante la carrera [AHMED y BURKE, 1983].

Para establecer la división en regiones hemos contemplado cuatro variables cuya discusión se abordará de manera exhaustiva cuando se traten los aspectos cualitativos del cartilago articular. Baste por ahora reseñar que cuanto mayor es la magnitud de la carga que soporte una región y cuanto más perpendiculares a la superficie son las fuerzas actuantes, mayor será el grado de radialización condrocitaria, más complejos resultan los patrones de trabeculación del hueso subcondral y peor definición mostrará el tidemark o línea de marea. El cartilago epifisario aparecerá más grueso en las zonas de carga intermedia.

En nuestro estudio hemos podido definir cuatro regiones con características morfológicas diferentes y cuantificar su tamaño relativo en el cóndilo de la rata. Las regiones que encontramos de anterior a posterior y que caracterizaremos en función del comportamiento de las variables cualitativas objeto de estudio se denominan 1, 2, 3 y 4.

Las regiones 1 y 4 se corresponden con los extremos anterior y posterior del cóndilo, respectivamente. Ambas reciben bajos volúmenes de carga y se pueden denominar **regiones de menor carga**, una anterior y otra posterior.

Las regiones 2 y 3 se sitúan en la porción central del cóndilo, que se corresponde con el lugar que soporta la carga usual del mismo. La región 2 se puede denominar **región de carga usual anterior** o **región de carga intermedia** y la región 3 se denomina **región de carga usual posterior** o, teniendo en cuenta que recibe la mayor intensidad de carga, también puede llamarse **región de máxima carga**.

Estamos de acuerdo con otros autores [SCHERRER y cols., 1979; AHMED y cols., 1983; AHMED y BURKE, 1983; BROWN y SHAW, 1984; JURVELIN y cols., 1986; KIVIRANTA y cols., 1988, 1992; SÄÄMÄNEN y cols., 1989; AROKOSKI y cols., 1993; GIRÁLDEZ, 1994] en que la mayor carga se soporta en las regiones centrales del cóndilo interno tanto en un plano sagital como en uno frontal.

Al no estar netamente definidos los límites entre las regiones, nos parece más adecuado referirnos a ellos como regiones de transición, en las que se observan cambios graduales entre las características morfológicas de las regiones contiguas.

V.3.- Superficie articular del cóndilo

Hemos comprobado que la región de mayor longitud es la que soporta más carga (región 3, con un 35,4%). Las regiones 1 y 2 son similares entre si (27%), y la

región 4 (posterior) es todavía más pequeña (10%).

La curvatura es mayor en las regiones posteriores del cóndilo, tomando valores similares las regiones 3 y 4. En las regiones anteriores de menor curvatura, sus valores también son similares. Estos datos coinciden con los que se obtienen en otras especies, en las que el radio de curvatura también aumenta hacia delante.

El entrenamiento no produjo cambio alguno en la longitud y la curvatura de las regiones, ni en el tamaño global del cóndilo, pues no se constataron diferencias significativas entre los grupos control y entrenado. Ante un incremento de cargas, las regiones no modifican sus dimensiones anteroposteriores, sin embargo, como más adelante veremos, sufren una modificación de su arquitectura, sobre todo en aquellos lugares que soportan mayor carga. No habiendo realizado mediciones de las dimensiones transversales del cóndilo, no podemos garantizar que no se hayan producido variaciones en ellas.

V.4.- Características histológicas del cartilago articular

Grosor

El grosor del cartilago articular, la celularidad, sus características estructurales, bioquímicas y físicas, varían entre individuos y entre articulaciones de un mismo individuo. También son diferentes en una misma articulación en función de la carga mecánica que soporta el cartilago y, en general, dependen del momento del desarrollo o edad del individuo [STOCKWELL, 1971; SCHENK y cols., 1986; PAUKKONEN y HELMINEN, 1987; GILMORE y PALFREY, 1988].

Nosotros, al igual que otros autores [HOLMDAHL e INGELMARK, 1948; VIGNON y cols., 1976; EGGLI y cols., 1988], hemos comprobado que el grosor del cartilago articular es significativamente mayor en aquellas regiones en las que el tejido soporta una mayor carga mecánica. De hecho en la región 3 de los animales del grupo control el grosor absoluto es dos veces mayor que en las demás regiones, cuyos grosores son similares entre si.

El ejercicio físico sistemático provocó que el grosor de la región 3 fuese todavía mayor que su correspondiente en los controles. Sin embargo, en el resto de las regiones se produjo una disminución. En definitiva podemos afirmar que con el entrenamiento el grosor absoluto de la región de mayor carga se incrementa considerablemente, mientras que en las demás regiones (1 y 2) disminuyen su valor

o no varía (4).

Las variaciones del grosor del cartilago articular con el entrenamiento han sido estudiadas por diferentes autores y sus resultados son heterogéneos, quizás a causa de la ausencia de uniformidad en el protocolo experimental de los distintos trabajos.

En la mayoría de los casos se produce un incremento en el grosor del cartilago [HOLMDAHL e INGELMARK, 1948; SÄÄF, 1950; KIVIRANTA y cols., 1988; OETTMEIER y cols., 1992b; AROKOSKI y cols., 1993]. Este aumento de grosor tuvo lugar en todas las regiones del cartilago no mineralizado [SÄÄF, 1950; OETTMEIER y cols., 1992b], en proporciones distintas [KIVIRANTA y cols., 1988] y coincidía con los lugares donde no se producía deplección de PG [AROKOSKI y cols., 1993]. KIVIRANTA y cols., [1988] no encontraron variaciones en el grosor del cartilago mineralizado, mientras que AROKOSKI y cols., [1993] lo observaron en la superficie patelar del fémur y OETTMEIER y cols., [1992] en la totalidad del tejido.

Hay una clara relación directa entre el grosor del cartilago calcificado y las cargas mecánicas que soporta la articulación [SIMON, 1971 ; STOUGARD, 1976; LANE y BULLOUGH, 1980; KEIN-NULEND y cols., 1987]. En condiciones normales el cartilago (calcificado y no calcificado) es más delgado donde no soporta peso, pero con el entrenamiento el cartilago mineralizado aumenta su grosor, especialmente en las regiones que en condiciones normales no están expuestas a grados elevados de carga mecánica [OETTMEIER y cols., 1992b].

Al considerar los mecanismos responsables del incremento de grosor del tejido, hemos de tener en cuenta que el cartilago y el hueso subcondral son una unidad funcional y se adaptan a los cambios conjuntamente. Puesto que a pesar del incremento de grosor del cartilago, no se altera el perfil condileo, habrá que pensar en que exista una remodelación en el hueso subcondral que compense dicha variación de grosor con la única finalidad de conservar una superficie articular idónea.

El incremento de grosor del cartilago no mineralizado corresponde a un incremento de los componentes celular y extracelular [HOLMDAHL e INGELMARK, 1948], más evidente en los cartilagos de los animales jóvenes en crecimiento, que se adaptan con mayor facilidad a las condiciones de carga fisiológica alta que los de los animales adultos [KIVIRANTA y cols., 1992].

En cambio, el cartilago calcificado no tiene un crecimiento intersticial. Sus variaciones de espesor dependen de la osificación encondral y del avance del frente de

calcificación del cartilago. Este último supone la incorporación del cartilago articular no calcificado en la zona de cartilago calcificado y tiene su expresión histológica en la duplicación del *tidemark* [LANE y BULLOUGH, 1980].

En nuestro estudio se comprueba que el frente de mineralización (*tidemark*) presenta un avance más rápido en las regiones que soportan mayor carga, porque su presencia es múltiple, lo que representa sucesivas incorporaciones de tejido no mineralizado. Por el contrario, allí dónde existe un nivel de carga elevado, el *tidemark* ni siquiera se identifica y la práctica totalidad del cartilago corresponde a tejido no mineralizado.

Además, para que el cartilago aumentado de grosor no sobresalga en superficie, será necesario que coexista con un retraso en la osificación subcondral. Ambas circunstancias concurren en las regiones del cartilago de mayor carga y se acentúan cuando se incrementa el nivel de entrenamiento.

Otros autores, minoritarios, [MAEDA y cols., 1979; HELMINEN y cols., 1986; KEMPPINEN y cols., 1986; KIVIRANTA y cols., 1992] observaron una disminución del grosor del cartilago tras el ejercicio sistemático, que alcanzó una reducción del 6 % en el cartilago no mineralizado del cóndilo medial del fémur, concretamente, en la cúspide de una sección frontal [KIVIRANTA y cols., 1992]. No se apreciaron diferencias en el resto del cartilago no mineralizado, ni en lugar alguno del cartilago mineralizado [KIVIRANTA y cols., 1992].

Al abordar otros aspectos de este trabajo hemos comentado que la diferencia entre estos resultados bien pudiera deberse a la heterogeneidad de los protocolos experimentales, que utilizan distintos tipos de entrenamiento, de especie y edad de los animales, etc. Pero, además, los autores revisados nunca tienen en cuenta las dimensiones relativas, es decir, no consideran la proporción entre el grosor del cartilago y el tamaño del animal. Como ejemplo sirve el dato de KIVIRANTA y cols., [1992] que observan una reducción del 6% en el grosor del cartilago no mineralizado del cóndilo interno del fémur. En este caso sólo se hace referencia a que los animales de un grupo y otro pesaran prácticamente lo mismo al finalizar el proceso de entrenamiento, lo que no sirve para estimar sus tamaños, puesto que se trata de una medida de composición corporal.

Nosotros hemos introducido una variable que, hasta el momento, no se ha visto recogida en ningún trabajo publicado, el grosor relativo. Consideramos que el valor del grosor absoluto, sin tener en cuenta el tamaño del animal no aporta una información

válida. El grosor del cartílago en un animal grande probablemente sea mayor que en un animal de pequeñas dimensiones. Sin embargo, considerado en proporción al tamaño del animal, es decir, en términos relativos, los resultados podrían invertirse.

Cuando utilizamos valores absolutos encontramos disminuciones en el grosor de algunas regiones de los animales entrenados que oscilaba entre un 5 y un 5,5%, muy similares a los obtenidos por KIVIRANTA. Sin embargo, al relativizar los valores desaparecieron las diferencias, lo que nos hace cuestionar la validez de los resultados absolutos utilizados por todos los autores.

Celularidad

Entre los autores que han estudiado la celularidad sobresale, a nuestro parecer, el trabajo realizado por EGGLI y cols. en 1988. En su estudio del cartilago articular del cóndilo medial del fémur de conejo, han calculado que al volumen tisular total del cartilago (39 mm^3) le corresponde un promedio de densidad numérica celular de 126.000. Ello significa que dicho cartilago articular contiene aproximadamente $4,9 \times 10^6$ condrocitos que ocupan el 11,6% del volumen tisular. Hechos los cálculos oportunos, comprobaron que existían $35.600 \text{ células/mm}^2$, o lo que es lo mismo $35,6 \text{ células/1.000 } \mu\text{m}^2$.

El estudio zonal demuestra que la densidad de volumen y la densidad numérica celulares son mayores en la zona I y que decrecen en función de la proximidad al *tidemark* según un factor aproximadamente igual a 2. No es así en lo que respecta al promedio de volumen celular, ya que los condrocitos superficiales resultan tener un volumen semejante al de las células de las zona II y IV, aunque en las secciones histológicas parezcan más pequeños los primeros.

La densidad numérica celular se hace menor desde las zonas superficiales hacia el *tidemark* de manera inversamente proporcional al incremento de la densidad matricial, de modo que aumenta el promedio de volumen matricial por célula. Este resultado podría interpretarse como un aumento del volumen matricial regulado por cada condrocito y, en consecuencia, cabría esperar una variación proporcional del contenido en organelas por célula.

STOCKWELL [1971], CASTAÑO y cols [1992, 1994] y GIRÁLDEZ [1994] también encuentran que la celularidad es mayor en las zonas superficiales y decrece hacia la profundidad, de forma que en las zonas profundas el valor es aproximadamente la mitad del cuantificado en las suprayacentes. También decrece

con la edad y cuando soporta carga.

Según nuestros resultados, podríamos decir que el número de células por unidad de superficie guarda una relación inversa con la carga soportada, de manera que es menor en la región 3 o de máxima carga y presenta sus valores más elevados en la región 1 o de menor carga anterior. Estos datos coinciden con los aportados por STOCKWELL [1971] y EGGLI y cols. [1988].

La mayor parte de los estudios sobre el efecto del entrenamiento intentan averiguar las repercusiones sobre la composición de la matriz extracelular y prestan menos atención a la cuantificación celular y a su distribución. Existe coincidencia en que el entrenamiento moderado provoca un aumento del número de células en el cartilago no calcificado [SÄÄF, 1950], un leve aumento del tamaño celular [SÄÄF, 1950; PAUKKONEN y cols., 1984a] y un incremento del tamaño de los núcleos celulares en la zona superficial [PAUKKONEN y cols., 1985].

En nuestro caso, el entrenamiento sólo provocó un incremento significativo de la celularidad en la región 2, manteniendo valores similares en el resto de las regiones (tabla y figura IV.4.6, pg. 200). El incremento de la celularidad puede deberse a un aumento absoluto o relativo del número de células. En el segundo caso la cantidad o volumen total de matriz extracelular sería menor, produciendo un efecto aparente de incremento de la celularidad, pudiendo deberse a una disminución en la producción de la matriz, a un incremento en su destrucción o, más probablemente, a ambas. Sea cual fuere la causa del aumento en el número de células, supone un dominio matricial menor para cada una de ellas.

En los animales entrenados, se aprecia, además, una reorganización celular, lo que indica una alteración en su disposición estructural. Suponemos que podría deberse a una modificación en las condiciones biomecánicas que soporta el cartilago. La celularidad (densidad numérica celular), el volumen matricial por célula (densidad matricial) y las características estructurales del condrocito (tamaño, forma y contenido de organelas) variarían según las zonas y las regiones del cartilago, en función de sus sollicitaciones mecánicas.

Resulta difícil interpretar el aumento de celularidad en la región 2. Por un lado, sabemos que el cambio cuantitativamente más importante en el cartilago osteoartrósico es un aumento en el número de células de la zona superficial. Este aumento se debe a un incremento de la actividad mitótica [HULTH y cols., 1970, 1972] que, probablemente, esté estimulado por la pérdida de matriz extracelular

[STOCKWELL, 1979] y la acción o efecto mitogénico de las citoquinas [BUCK-WALTER y MARTIN, 1995]. Por otro lado, cuando se produce el fracaso para estabilizar o restaurar el tejido se llega a la tercera fase de la degeneración cartilaginosa, una disminución en la respuesta de los condrocitos que podría resultar irreversible. Cuando esto ocurre, se acelera la pérdida de matriz extracelular y las células comienzan a morir [ROY, 1970; GRITZKA y cols., 1973]. Este proceso, provoca la pérdida de matriz que aumenta la densidad celular para luego disminuir y conducir a la erosión de la superficie articular, se produce gradualmente en zonas cada vez más profundas del cartílago articular, hasta llegar a alcanzar al hueso subcondral [PAUKKONEN y cols., 1986].

Nosotros no hemos hecho el recuento celular para cada una de las zonas del tejido por dos razones. En primer lugar, al tratarse de animales jóvenes, las zonas no están definidas y no pueden identificarse en el examen histológico. En segundo lugar, las dimensiones del cartílago de la rata impiden establecer áreas de un tamaño suficientemente significativo. Por lo tanto, no contamos con datos objetivos que nos permitan afirmar en qué zona del cartílago se produce el incremento del número celular. Tampoco podemos afirmar con certeza que se destruya matriz extracelular. Sin embargo, el incremento de la celularidad, sólo en la región 2, junto con una mayor apetencia generalizada de la matriz extracelular por la Safranina O, nos inducen a pensar que se produzca una destrucción de matriz extracelular, responsable del incremento relativo del número de células y del incremento en la síntesis y deposición de proteoglucanos, en un intento de reparación.

No sabríamos explicar la razón por la que esta variación de la celularidad se circunscribe a la región 2. Pero, este hecho sirve para confirmar nuestra opinión sobre la heterogeneidad regional del cartílago articular, pues resulta obvio que alguna o algunas de las características que presenta el cartílago en esta región ha de ser necesariamente distinta a la de otras regiones.

Otra cuestión interesante sería establecer el significado y el pronóstico de estos resultados. Nosotros consideramos que sería claramente negativo porque, en condiciones normales la celularidad disminuye con la edad y con la carga. En este caso y, aunque no se trate de la región de máxima carga, estamos convencidos de que como consecuencia del entrenamiento también sufre un importante incremento de las cargas que soporta. En consecuencia cabría esperar una disminución y no el aumento de celularidad que realmente se ha producido.

A modo de resumen, podríamos decir, al igual que otros autores [HOLMDAHL e INGELMARK, 1948 VIGNON y cols., 1976; EGGLI y cols., 1988], existe un mayor grosor del cartilago en las regiones articulares que soportan mayor carga, con un menor número de células, de un mayor tamaño y con una masa matricial también mayor. Estas características se invierten en las regiones que soportan menor carga. Esta diferencia en el grosor podría acentuarse con un incremento en las cargas fisiológicas [JURVELIN y cols., 1986] y el entrenamiento moderado [KIVIRANTA y cols., 1988]. Sin embargo, desde que el cartilago alcanza el grosor medio normal correspondiente a una zona que soporta peso, la influencia de las cargas mecánicas parece ser sólo uno de los diferentes factores que influyen en él; las necesidades para la congruencia articular podrían ser otro [KINCAID y van SICKLE, 1981].

Definición zonal

La celularidad (densidad numérica celular), el volumen matricial por célula (densidad matricial) y las características estructurales del condrocito (tamaño, forma y contenido de organelas) varían según las zonas y la localización topográfico-funcional del cartilago dentro de una misma articulación.

En el cartilago articular adulto se pueden distinguir cuatro zonas. La **zona I, superficial o tangencial**, es la de mayor densidad celular. Los condrocitos son relativamente pequeños y aplanados, con su diámetro mayor paralelo a la superficie articular, lo que refleja la disposición de las fibras colágenas de la matriz, que siguen un trayecto fundamentalmente tangencial. La **zona II, de transición o intermedia**, posee células más grandes, de perfil redondeado y dispuestas en una matriz cuyas fibras colágenas se cruzan oblicuamente en todas las direcciones. En la **zona III o profunda** las células aumentan de tamaño y se ordenan en columnas perpendiculares a la superficie, denuncia el predominio de la disposición radial de las fibras de colágeno. La **zona IV** se caracteriza por poseer una matriz fuertemente mineralizada. En ella las células, dispuestas en columnas, están individualmente rodeadas por una fina capa de matriz no mineralizada.

La organización del cartilago articular en zonas se establece sólo cuando termina el crecimiento local [SCHENK y cols., 1986]. En el cartilago de individuos en crecimiento, en los que no ha concluido el modelado de las epífisis y, por lo tanto, tampoco la conformación final del cartilago articular, no es tan clara la división en zonas. El tipo de distribución celular está muy determinado por la proliferación, de manera que se observan grupos de dos células o más sin una orientación preferente. Hacia la zona de calcificación las células se vuelven hipertróficas pero no forman

columnas. La disposición radial de las capas III y IV no es aparente todavía, de manera que sólo tiene en común con el cartilago adulto la disposición de las zonas o capas I y II. Las características de la zona III sólo se hacen aparentes en la madurez del individuo, de modo que podría considerarse que su diferenciación es una adaptación a las demandas mecánicas específicas del cartilago articular [SCHENK y cols., 1986; CASTAÑO, 1992; CASTAÑO y cols., 1994; GIRALDEZ, 1994].

Nosotros opinamos que el estudio de la definición zonal resulta interesante porque revela el grado de madurez en la organización estructural de los componentes del cartilago. La disposición de las células refleja el ordenamiento de otros elementos estructurales de la matriz. Una matriz extracelular ordenada influye sobre la organización y el comportamiento de las células que contiene [MAJACK y BORNSTEIN, 1984, 1985a-b; NEWMAN y cols., 1985], afectando a su forma, su movimiento, su metabolismo y su diferenciación. De esta manera, la matriz podría desempeñar un papel central en la generación y en el mantenimiento de los patrones de ordenación espacial de las células de los tejidos y órganos durante el desarrollo [BURRIDGE y cols., 1988].

La organización estructural del cartilago no sólo depende del crecimiento, sino también de las exigencias mecánicas a las que se somete el tejido [CASTAÑO, 1992; CASTAÑO y cols., 1994; GIRALDEZ, 1994]. En nuestro estudio, hemos comprobado que la zona I presenta un grosor mayor en las regiones de carga usual y sus células son más escasas y se encuentran separadas por mayor cantidad de matriz extracelular sin que puedan identificarse grupos isogénicos. Estos hallazgos concuerdan con los de estudios previos [CASTAÑO, 1992; CASTAÑO y cols., 1994; GIRALDEZ, 1994]. La práctica ausencia de células en la porción más superficial de la zona I, implica más baja densidad numérica y volumétrica, con un volumen matricial por célula aproximadamente dos veces mayor que en el cartilago sin carga. Esta escasez celular, puesta de manifiesto por EGGLI y cols. [1988], coincide con los datos previamente obtenidos por BULLOUGH y cols. [1985] en la zona no cubierta por el menisco del platillo tibial del perro y por VIGNON y cols. [1976] en la zona de carga de la cabeza femoral humana.

El descenso de la celularidad, la ausencia de las células más superficiales y el incremento del volumen matricial por célula observados en la zona I del cartilago con carga, puede deberse a un mayor índice de muerte celular, interpretado como un signo precoz de osteoartritis [DUNHAM y cols., 1985] o a una mayor actividad de síntesis matricial en el cartilago sometido a carga *in vitro* [De WITT y cols., 1984; PALMOSKI y BRANDT, 1984; SLOWMAN y BRANDT, 1986]. Nosotros nos mostramos más

de acuerdo con la segunda opción, porque el aumento del grosor del cartilago y el incremento generalizado de la apetencia matricial por la Safranina O indican un incremento de los componentes matriciales.

Hemos encontrado que las zonas II y III también aparecen mejor definidas en las regiones de mayor carga (regiones 2 y 3), de manera que presentan un grosor mayor que en las demás regiones. La zona II, bien definida en la región de mayor carga, se va adelgazando a medida que la carga disminuye y termina por confundirse con la zona I, de tal forma que en las regiones de menor carga no se puede identificar de manera independiente. La radialización, característica de la zona III, es más evidente a medida que aumenta la carga que soporta el cartilago, resultando máxima en la región 3.

El contenido celular en RER, mitocondrias y Golgi, es similar en todos los tipos funcionales de cartilago articular. Sin embargo, las zonas I, II y III del cartilago con carga muestran un incremento enorme del contenido de glucógeno y filamentos intermedios que, en parte, es el responsable del agrandamiento tan manifiesto del volumen celular en las zona II y III [EGGLI y cols., 1988].

Las gotas de lípidos, frecuentemente asociadas al glucógeno y los filamentos intermedios, están también aumentadas en el cartilago con carga, si bien y a pesar del aumento relativo, la cantidad absoluta por célula es pequeña.

EGGLI y cols. [1988] hacen una interpretación funcional en base a la heterogeneidad estructural de las zonas del cartilago articular. Así, en la zona I, el volumen celular y el volumen de organelas citoplasmáticas son similares a los existentes en otras zonas, pero hay que tener en cuenta que sólo el núcleo ocupa aproximadamente un tercio del volumen celular y que el volumen matricial por célula es considerablemente menor que en las zonas III y IV. Tales proporciones pueden ser los indicadores de que en la zona I existe un alto metabolismo matricial aún en condiciones basales. Recordemos que en las zonas II y III el volumen celular es significativamente mayor, fundamentalmente debido a un incremento de filamentos intermedios y glucógeno. Como habíamos comentado, se cree que los filamentos intermedios llevan a cabo una función mecánica y, en efecto, las presiones parecen ser más altas en la zona III [AKIZUKI y cols., 1986].

En la zona III de las regiones con carga, el volumen medio celular es considerablemente mayor que en las regiones que soportan una carga menor. Dicho aumento se debe, una vez más, al acumulamiento de glucógeno y de filamentos intermedios, pero existe también un alto contenido celular de RER y aparato de Golgi

[EGGLI y cols., 1988].

El incremento del tamaño celular [HOLMDAHL y INGELMARK, 1948], el elevado contenido de organelas y el acumulamiento de glucógeno [MAZHUGA y CHERKASOV, 1974] observados en las zonas II y III del cartilago con carga, son considerados como indicadores de una alta actividad sintética del condrocito.

Antes de hacer referencia a la zona IV, consideramos oportuno realizar algunos comentarios sobre la línea de marea o frente de mineralización, conocido más frecuentemente como *tidemark*, ya que, en sentido estricto no podremos hablar de zona IV si no existe el *tidemark*, que marcaría los límites entre el cartilago mineralizado y el no mineralizado. La presencia o ausencia del frente de mineralización está muy estrechamente relacionada con el nivel de cargas que soporta el cartilago articular suprayacente, aparece mejor definido en los lugares donde la carga es menor. Así, lo encontramos bien definido y con presencia múltiple en las regiones 1, 2 y 4. En cambio, en la región 3, y sobre todo en la porción central, no existe evidencia alguna del mismo.

En la extensa revisión bibliográfica realizada, ningún autor presta especial atención al frente de mineralización. Teniendo en cuenta que el *tidemark* viene a representar una interfase entre un tejido mineralizado y otro que no lo está, y que el grado de mineralización del cartilago articular previo a la osificación se puede ver influido por las condiciones mecánicas soportadas, opinamos que su estudio es inexcusable. Como más tarde tendremos ocasión de discutir, será precisamente en esta región de transición entre dos zonas del cartilago con características físicas tan diferenciadas, donde se producirán importantes alteraciones como consecuencia de la realización de ejercicio físico sistemático.

Una vez establecida la presencia del *tidemark* en las regiones donde el cartilago soporta menor carga, podremos decir que la zona IV, correspondiente a cartilago mineralizado, sólo será visible en estos mismos lugares. Los condrocitos de la mitad superior de la zona calcificada son mucho más grandes que las células de las zonas suprayacentes. Las células abandonan su disposición en columnas y se organizan en pequeños grupos. En la mitad inferior de la zona calcificada, los condrocitos son de menor tamaño que en la superior, tienen una distribución mas desordenada, al azar, y ya no suelen formar pequeños grupos.

En la zona IV el contenido matricial de PG es bastante alto, sin embargo el volumen matricial por célula y la densidad numérica celular no difieren de forma significativa entre la zona IV de regiones con carga o sin carga. [EGGLI y cols., 1988].

Nuestros hallazgos, en animales jóvenes, son aparentemente, contrarios a los obtenidos por SCHENK y cols. [1986], quienes afirman que la distinción de las zonas I, II y III sólo es posible en los animales adultos. Quizás, además de la edad, sería conveniente tener en cuenta los requerimientos mecánicos que se solicitan al cartílago [CASTAÑO, 1992; CASTAÑO y cols., 1994; GIRALDEZ, 1994]. De esta manera, nosotros comprobamos que la evolución de la definición histológica zonal es más acentuada en las regiones de mayor carga, donde se podría equiparar a la que presentan animales de más edad. Además, aunque todos los estudios se refieren al cartílago articular del cóndilo medial del fémur de conejos o ratas, nosotros, al igual que CASTAÑO [1992], CASTAÑO y cols. [1994] y GIRALDEZ, [1994], distinguimos entre regiones de mayor y menor carga mecánica, al mismo tiempo que excluimos las porciones periféricas del cóndilo. Es posible que, precisamente en estos últimos lugares, donde las demandas mecánicas son mucho menores, se encuentre una distribución zonal similar a la descrita por aquellos autores.

Estariamos de acuerdo con SCHENK y cols. [1986], CASTAÑO [1992], CASTAÑO y cols. [1994] y GIRALDEZ, [1994] en que las características de la zona III podrían considerarse una adaptación a las demandas mecánicas específicas del cartílago articular, si bien, en nuestra opinión, esto puede ocurrir antes de que el animal sea adulto. En cambio, en las regiones de menor carga, se aprecia una definición histológica menor y que, a medida que disminuye la demanda mecánica, llega a presentar una distribución predominantemente tangencial. En esta distribución encontramos condrocitos con diferentes morfologías, no necesariamente aplanados, que orientan sus diámetros mayores paralelamente a la superficie. Es posible que esta disposición sea lo que ha motivado la opinión de CAMOSSO y MAROTTI [1962] cuando afirman que la zona I llegaría a alcanzar hasta el 50% del grosor del cartílago articular en los animales inmaduros.

En cuanto al efecto del ejercicio físico sistemático sobre la definición zonal del cartílago, hemos comprobado que las repercusiones afectan, sobre todo, a las regiones que habitualmente ya soportan la mayor carga. En efecto, los mayores cambios se encuentran en la región 2, donde la estratificación aparece más definida, pareciéndose a la de la región 3 de los animales no entrenados. En la región 3, se produce un incremento considerable en el grosor de la zona radializada, que llega a ocupar la práctica totalidad del grosor del cartílago.

En definitiva, pensamos que las porciones centrales del cóndilo (regiones 2 y 3) son las que soportan el mayor incremento de cargas debidas al entrenamiento y en ellas se acentúan las características típicas de las regiones que soportan carga. Esta

apreciación coincide con la interpretación que podríamos hacer de los resultados obtenidos por otros autores, que demuestran que el ejercicio físico sistemático induce un incremento de la ya elevada actividad sintética en las regiones de mayor carga [HOLMDAHL y INGELMARK, 1948; SÄÄF, 1950; PAUKKONEN y cols., 1984a]. Además, el incremento de carga provoca hipertrofia celular y de las organelas, aumento de la replicación celular y reducción de la acumulación de filamentos finos intracitoplasmáticos (considerados como un signo de degeneración celular) [PAUKKONEN y HELMINEN [1987c].

Características estructurales

A pesar de las múltiples polémicas generadas sobre la lisura de la superficie articular del cartílago, los estudios de BLOEBAUM y WILSON, 1980] la han confirmado definitivamente, lo que se correspondió con nuestra observación en los animales del grupo control.

La integridad estructural en los cartílagos del grupo control es completa o absoluta en 5 animales. En otro, se observan soluciones de continuidad del tejido que consisten en grietas perpendiculares a la superficie, ubicadas en la región de mayor carga, que alcanzan la zona más profunda y no se acompañan de otras alteraciones. La conservación de las apetencias tintoriales en los márgenes de la fisura sería indicativa de su origen artefactual.

En cuanto al aspecto y distribución generales de los componentes celular y matricial no observamos ninguna particularidad. La distribución de las células y el aspecto de la matriz son perfectamente normales y adecuadas a la edad de los animales, como se describe en otros apartados. Sin embargo, convendría reseñar las variaciones que se encontraron en dos casos. En uno aparecieron grandes espacios de ausencia celular en las zonas I y II de la región 1, que no se acompañaron de signos de necrosis celular. En otro se trataría de las alteraciones del animal número 4 antes descritas y de probable origen artefactual.

La adecuada distribución de los componentes *celular* y *matricial* deriva de su capacidad de interacción, influyéndose recíprocamente para conseguir el equilibrio que aporte la respuesta más apropiada a las demandas funcionales de cada momento. Existe una íntima unión entre la membrana celular del condrocito y la matriz, de manera que al tiempo que ésta protege a las células de posibles lesiones derivadas de la presión, les transmite señales de tipo químico, eléctrico y mecánico que influyen en la función del condrocito [BUCKWALTER y ROSEMBERG, 1988].

Las propiedades biomecánicas y las funciones biológicas del cartílago están determinadas por la composición y estructura molecular de la matriz producida por los relativamente escasos condrocitos. Dichas propiedades mecánicas son posibles en virtud de las características morfológicas y fisico-químicas de la matriz del cartilago articular, que son la expresión de complejos mecanismos de equilibrio entre los distintos componentes matriciales, incluso en condiciones de reposo. La red de fibras de colágeno actúa como una estructura rígida en cuyo interior quedan atrapados los proteoglicanos. A su vez, las fibras de colágeno, prácticamente inextensibles (pueden estirarse un 5% de su longitud antes de la ruptura) [MILLER, 1978], se mantienen pretensadas por la acción de la turgencia hídrica de la sustancia fundamental (gel de proteoglicanos) [MAROUDAS, 1976a], de manera que proporciona una respuesta elástica instantánea a las fuerzas de compresión [SOUDRY y cols., 1986].

En base a la interdependencia existente entre la función y la forma, se presume que la organización y disposición de las fibras de colágeno guarden relación con el patrón de fuerzas que actúan sobre el cartilago articular [BULLOUGH y GOODFELLOW, 1968]. De ahí que la distribución espacial de las fibras de colágeno del cartilago articular haya sido objeto de numerosos estudios, al tiempo que ha suscitado controversias.

Prácticamente, todos los condrocitos articulares poseen un cilio primario [WILSMAN, 1978] cuya función, aunque no es del todo conocida, ha suscitado numerosas hipótesis. La motilidad se considera poco probable puesto que, aparentemente, no existe dineína en los dobletes ciliares. Sin embargo, se ha especulado sobre la posibilidad de que tenga una función sensorial, de manera que la deformación producida por el funcionamiento articular genere respuestas que pudieran estar relacionadas con la regulación de la composición y mantenimiento de la matriz [POOLE y cols., 1985]. Las variaciones topográficas del cartilago como respuesta a la distribución desigual de las cargas también sugiere la existencia de un control local sobre el metabolismo condrocitario [KIVIRANTA y cols., 1992].

Si el cartilago es capaz de adaptar la composición de sus células y de su matriz extracelular a las variaciones de la demanda mecánica que sufre, cabe esperar que el entrenamiento provoque algunas modificaciones para adecuarlo a las nuevas exigencias. En este sentido, sería razonable pensar que si sobrepasaran la capacidad de respuesta del cartilago llegaría a producirse su deterioro.

El entrenamiento al que sometimos a nuestros animales fue claramente excesivo, y rebasó la capacidad de adaptación del tejido. Sin embargo, con carácter

general podemos afirmar que la superficie articular de los animales entrenados se conservó lisa, si bien en dos animales se encontraron alteraciones localizadas en la regularidad normal de la región 3 que no llegaron a afectar a su curvatura. Estas anomalías consistieron en sendos abultamientos ubicados en los extremos anterior y posterior de la región 3, en los lugares de transición con sus vecinas. En otro caso se observan pequeñas irregularidades superficiales en la región de transición 3-4.

Los efectos más perniciosos afectaron a la integridad estructural del tejido. En todos los animales se apreciaron defectos estructurales de características similares, localizados en la porción profunda de la zona III correspondiente a la región de carga máxima. La extensión de los defectos y la intensidad de las manifestaciones fueron distintas para cada animal. Consistieron en la pérdida de aptencia matricial por la Safranina O, que hizo más visibles las fibras de colágeno, con un aspecto ondulado, la aparición de grandes espacios acelulares, en algunos casos debidos a necrosis celular y una reorganización de la distribución celular. En dos casos, junto a estas alteraciones coexisten grietas o dehiscencias perpendiculares a la superficie.

El primer aspecto discutible es la ubicación profunda de las lesiones sin alteración de la superficie articular. Se sabe que el primer signo visible de osteoartritis es una fibrilación localizada o una disrupción de los estratos más superficiales del cartilago articular, que tienen carácter progresivo y llegan a afectar a estratos más profundos. Mientras que los cambios debidos a la edad son de aspecto similar pero no progresan [BUCKWALTER y MARTIN, 1995]. Por lo tanto en la mayoría de los casos, las investigaciones establecen la integridad del tejido articular basándose en la preservación o no de su estrato más superficial, apoyándose en la falsa idea de que encontrándose intacta la superficie articular, el resto del cartilago no debería presentar anomalías. Nuestros estudios previos, junto con datos aportados por otros autores [STOUGARD, 1976; DEKEL y WEISSMAN, 1978; OETTMEIER y cols., 1989a y b] han demostrado que se pueden producir alteraciones muy tempranas del cartilago que sólo afectan a estratos profundos. Mientras ellos ubican estas alteraciones en la interfase cartilago-hueso subcondral, nosotros las hemos localizado en la interfase entre el cartilago mineralizado y el no mineralizado, donde las condiciones mecánicas pueden generar graves deterioros antes de resultar afectada la superficie del cartilago.

Los trabajos experimentales demuestran que los traumatismos directos, sean agudos o repetitivos, pueden dañar el cartilago sin causar una disrupción tisular visible [BUCKWALTER, 1992]. La compresión resultante y las fuerzas secantes aplicadas a una superficie articular pueden romper la matriz del cartilago produciendo fisuras condrales, colgajos o fracturas, y las cargas de impacto transarticulares pueden

provocar fracturas en la región de la zona de cartilago calcificado y del hueso subcondral coexistiendo con una superficie articular intacta [BUCKWALTER y cols., 1990a; THOMPSON y cols., 1991].

La morfología, la composición bioquímica y el nivel de síntesis del colágeno pueden variar, sin que por ello se produzcan alteraciones apreciables en la concentración total del mismo [MANKIN, 1974]. Algunos autores [MAROUDAS, 1976a; FREEMAN, 1980] sugieren que la fatiga y la disrupción de la red colágena ocurren muy precozmente y serían las responsables del aumento del contenido de agua. La ultraestructura del cartilago revela una disposición más próxima, paralela y radial de las fibras colágenas, agregados de fibrillas ondulantes en fase e incluso rizados. Este aspecto de la estructura colágena es ostensible incluso en tejidos osteoartrosicos aunque no hayan sido sometidos a estrés. Estos cartilagos responden precariamente incluso ante presiones muy ligeras [BROOM, 1986a; ROBERTS y cols., 1986].

El interés que suscitan la composición, estructura y organización espacial del cartilago articular es debido a que la red colágena se considera el lugar donde se producen los cambios bioquímicos más tempranos en el proceso degenerativo osteoartrosico. De tal manera, la tumefacción y el incremento del contenido de agua iniciales que se producen, tanto en la osteoartrosis humana como en los modelos de osteoartrosis animal, se atribuyen al deterioro de la red colágena [MANKIN y ZARINS, 1975; McDEVITT y MUIR, 1976; MAROUDAS y VENN, 1977; AKIZUKI y cols., 1987].

La aplicación de cargas cíclicas a muestras de cartilago humano *in vitro* causó fibrilación de la superficie [WEIGHTMAN, 1976] y la aplicación periódica de impactos sobre articulaciones metacarpofalángicas bovinas *in vitro*, combinada con movilización de la articulación, causó degeneración de la superficie articular [RADIN y PAUL, 1971]. La sobreutilización repetida de las articulaciones de los conejos *in vivo* combinada con la aplicación de sobrecargas instantáneas, causó daño al cartilago, incluyendo la formación de grupos de condrocitos, fibrilación de la matriz, engrosamiento del hueso subcondral y penetración de capilares subcondrales en la zona calcificada del cartilago articular [DEKEL y WEIGHTMAN, 1978]. La extensión del daño cartilaginoso parecía incrementarse con la prolongación de los periodos de sobrecarga repetitivos, y el deterioro del cartilago continuaba después de cesar las sobrecargas. Este último hallazgo sugiere la existencia de algún daño en el cartilago que no es visible de manera inmediata.

Si bien la deformación instantánea bajo compresión depende más directamente de las fibras colágenas, los proteoglucanos intervienen en dicha respuesta ya que modulan el pretensado a través de su efecto osmótico. La pérdida de proteoglucanos permite una mayor hidratación de los existentes y, consecuentemente, la presión osmótica y la presión de imbibición son menores, por lo que el tejido cede más fácilmente bajo presión. La menor concentración de proteoglucanos y la mayor hidratación del tejido aumentan su permeabilidad y, además, se facilita el acceso hacia la matriz de moléculas que en condiciones normales estarían excluidas [BURTON-WURSTER y cols., 1986]. Cuando se ha producido la deplección de proteoglucanos existe un incremento dramático de la deformación instantánea [MIZRAHI y cols., 1986]. Aunque el cartilago osteoartrosico contiene mayor cantidad de agua, ésta difunde más fácilmente y la rehidratación del proteoglucano es más difícil y lenta. El cartilago se deshidrata y adelgaza bajo la compresión, perdiendo la capacidad amortiguadora. Así, HOSHINO y WALLACE [1987], en su estudio sobre la capacidad de absorción de impacto de la rodilla humana concluyen que mientras en las rodillas normales se absorbe el 52% de la fuerza, en las artrosicas se absorbe sólo un 24%. Si la compresión es repetitiva el tejido se deforma en cada ciclo, agravándose el deterioro por fatiga de la red colágena [MAROUDAS y cols., 1986].

La morfología parece sugerir que la transmisión suave de la tensión entre el tejido adaptable y el rígido puede conseguirse a través de los cambios en la orientación y la densidad de empaquetamiento de las fibras de colágeno en el cartilago adyacente al *tidemark* [BROOM y POOLE, 1982]. La densidad de empaquetamiento fibrilar va a variar en relación con la concentración de PG, de manera que éstos influyen también sobre las propiedades mecánicas de la fibrilla. En el cartilago articular, por lo tanto, la densidad de empaquetamiento de la fibrilla se incrementa con la profundidad, ya que es con ésta con la que aumenta el contenido de PG [KATZ y cols., 1986]. Según GONGADZE [1987], esta región, que sufre cambios importantes con el crecimiento, el envejecimiento y la patología osteoarticular, puede considerarse como una barrera o un filtro selectivo que regula la permeabilidad. Su alteración, además de suponer un deterioro estructural, modificaría la permeabilidad, permitiendo el acceso de vasos subcondrales y otros elementos desde la médula ósea.

La fatigabilidad de la red colágena irá unida a la disminución de la resistencia a la compresión en las zonas profundas. Si bien, la zona superficial conserva la respuesta mecánica, cualquier disrupción del colágeno en la zona superficial expone biomecánicamente las zonas profundas y permite la progresión de su deterioro [ROTH y MOW, 1980].

En nuestra opinión, las alteraciones estructurales encontradas en la profundidad de la zona III de la región de máxima carga podrían deberse a varias causas. El engrosamiento del cartilago incrementaría la capacidad del tejido para absorber las fuerzas de compresión, pero pensamos que lo haría menos idóneo para tolerar los esfuerzos tangenciales, porque al aumentar la longitud de las fibras de colágeno, también se incrementarían los momentos que sufren estas en la interfase entre el cartilago no mineralizado y el mineralizado. Esta situación se agravaría por la pérdida de proteoglucanos que se produce a este nivel y cuya naturaleza se discute más adelante (pg. 255). La disminución en la concentración de PG provoca un deterioro en el estado de pretensión de la red de colágeno y facilita sus desplazamientos. Estas mismas circunstancias son las responsables de que las células del estrato profundo sufran un aplastamiento mayor y, en consecuencia, un aumento de sus dimensiones transversales que también desplazarían a las fibras de colágeno. En conjunto, asistimos al concurso de varios factores que provocarían mayor movilidad de las fibras de colágeno en el lugar de su anclaje en el cartilago mineralizado, donde romperían con mayor facilidad.

Apetencias tintoriales

Los PG del cartilago, sus características y concentraciones son muy variables en función de las demandas mecánicas regionales, la edad, la patología, etc. [MÜLLER y cols., 1989]. Nuestros datos coinciden con los de otras observaciones en las que, por medio de tinciones específicas con colorantes catiónicos, se constata una distribución diferente según la profundidad, de tal forma que la captación de Safranina O es mayor en la zona más profunda, donde el contenido en glucosaminoglucanos es mayor que en la superficie, lugar en el que predomina la apetencia por el fast green [HIRSCH, 1944; STOCKWELL y SCOTT, 1967, 1970; MAROUDAS y cols., 1969, 1973; ROSENBERG, 1971; LEMPERG y cols., 1974; JONES y cols., 1977; MAROUDAS y VENN, 1977; VENN y MAROUDAS, 1977; VENN, 1978, 1979; MEACHIM y STOCKWELL, 1979; BAYLISS y cols., 1983; RATCLIFFE y cols., 1984; KIVIRANTA y cols., 1985, 1987; CASTAÑO, 1992; CASTAÑO y cols., 1994; GIRÁLDEZ, 1994].

El tamaño y la densidad de los PG varían significativamente, dependiendo de la profundidad de la zona estudiada y de la proximidad de la matriz al condrocito. Desde la superficie hasta la profundidad, el número de gránulos de PG aumenta mientras que su diámetro disminuye [BAYLISS y cols., 1983b; PAUKKONEN y HELMINEN, 1987a], al mismo tiempo que aumenta su proporción en queratán sulfato [HEINEGÅRD y AXELSSON, 1977; JONES y cols., 1977; STOCKWELL, 1979;

BAYLISS y cols., 1983b]. La disminución del tamaño de las subunidades de PG y el aumento de su número hacia la profundidad del cartilago podrían depender de la diferencias en la densidad celular a través de las distintas zonas del cartilago sin calcificar [PAUKKONEN y cols., 1984a]. Se cree que la vida media de las moléculas está en relación con su distancia hasta la célula [STOCKWELL, 1979], por lo que las subunidades de PG en la zona superficial, rica en células, serían moléculas más jóvenes y mayores que las de la zona profunda, pobre en elementos celulares. La acumulación de moléculas matriciales fragmentadas ocurriría, sobre todo, en esta última zona [PAUKKONEN y HELMINEN, 1987a].

El número de gránulos de PG es mayor cuanto más cerca nos encontramos del condrocito y disminuye a medida que nos alejamos de él, de manera que es mayor en la matriz pericelular y desciende hacia la interterritorial. Por el contrario, el diámetro de los gránulos es menor en la matriz pericelular y aumenta en la interterritorial [POOLE y cols., 1980; POOLE, 1983; PAUKKONEN y HELMINEN, 1987a].

Los PG contribuyen a las características mecánicas de la matriz de diversas formas: incrementan la resistencia del tejido a la compresión y regulan el diámetro de las fibras de colágeno. La distribución de los GAG en el cartilago produce un aumento gradual de la presión osmótica interna y, en consecuencia, proporciona al cartilago la resistencia elástica ante una fuerza aplicada a la articulación [MAROUDAS, 1976a; GREENWALD y cols., 1978]. Parece evidente que existe una relación estrecha entre el contenido y composición de los GAG con las cargas mecánicas que soporta el cartilago, y que su resistencia a la compresión depende de la concentración de GAG, especialmente del queratán sulfato [YOSHIDA y AZUMA, 1982]. Para una concentración determinada, la influencia del queratán sulfato sobre la "dureza" del cartilago es mayor que la del condroitín sulfato [KEMPSON y cols., 1970].

Los PG parecen tener un papel relevante en la regulación del diámetro de las fibras de colágeno. Cuando son ricos en condroitín sulfato tienen capacidad de unirse al colágeno [ÖBRINK, 1973] y podrían ejercer un efecto inhibitor sobre el crecimiento de la fibra en grosor (diámetro) [SCOTT y cols., 1981b]. El queratán sulfato no interactúa con el colágeno y, por lo tanto, se puede pensar que permite el crecimiento fibrilar continuo, lo que se traduce en unas fibras más gruesas. En los lugares donde los gránulos de la matriz son de mayor tamaño (ricos en condroitín sulfato) las fibras de colágeno son de menor diámetro; en cambio, donde los gránulos son menores (pobres en condroitín sulfato) las fibras de colágeno son más gruesas. Podría ser que, las fibras de colágeno delgadas, al unirse a subunidades de PG grandes y ricas en condroitín sulfato, formasen una matriz más densa en el estrato superficial, lo que impediría la

difusión de PG desde el cartilago articular hacia el líquido sinovial. [PAUKKONEN y HELMINEN, 1987a]. Las fibras de colágeno de mayor grosor se encontrarían en las regiones más profundas del cartilago articular [STOCKWELL, 1979; ZAMBRANO y cols., 1982; PAUKKONEN y HELMINEN, 1987a].

Estamos completamente de acuerdo en que la distribución de los proteoglicanos depende de las condiciones mecánicas típicas de cada región. El mayor contenido de PG, que podría contribuir a una mayor "dureza" del tejido cartilaginoso [KEMPSON y cols., 1970] y los PG con mayor peso molecular, se encuentran exclusivamente en las áreas de cartilago articular que soportan más peso [MATTHEWS, 1952; BJELLE, 1975; YOSHIDA y AZUMA, 1982; BULLOUGH y cols., 1985; SLOWMAN y BRANDT, 1986; KIVIRANTA y cols., 1987] y también del cartilago que es sometido a un incremento de estrés mecánico [CATERSON y LOWTHER, 1978; TAMMI y cols., 1983; PAUKKONEN y cols., 1984a]. En las áreas que soportan más peso la cantidad de GAG y la proporción de queratán sulfato/condroitin sulfato también son mayores [SWEET y cols., 1977a; THONAR y cols., 1978; YOSHIDA y AZUMA, 1982].

De los datos expuestos se puede concluir que la concentración de PG en la matriz extracelular varía con la edad, y que esta variación es distinta según las demandas mecánicas a las que se vea sometido el cartilago. En nuestro estudio, se aprecia que la concentración de PG es mayor en las zonas que sufren una mayor carga y disminuye de manera directamente proporcional con la misma. Simultáneamente, cuanto mayor es la carga soportada mayor redistribución se produce en la apetencia tintorial por la Safranina O, que alcanza estratos o zonas cada vez más superficiales. Esto estaría en consonancia con los resultados aportados por MIZRAHI y cols. [1986] en el sentido de que son estos componentes de la matriz extracelular los que proporcionan su resistencia ante la compresión, puesto que indirectamente juegan un papel modulador de la rigidez (dureza) de la red colágena a través de su presión osmótica y de la regulación del diámetro de sus fibras.

En el estudio de las muestras teñidas con HEA, se observó que la MT de los condrocitos siempre se tiñe de azul, con independencia de la zona y la región que se estudie. En cambio, en la MIT el EB predomina en las zonas superficial y profunda (1 y 4), y coexiste con el APA en la zona II. En la zona III, cuando existe, el comportamiento es más variable y la intensidad de su apetencia por el EB guarda una relación directa con la carga soportada.

Consideramos que esta coloración es muy útil para estudiar el componente fibrilar colagénico de pequeño diámetro, que muestra apetencia por el APA. Sin embargo, los patrones que hemos descrito para la distribución de las apetencias tintoriales no coinciden exactamente con la organización espacial del colágeno, puesto que, en superficie, donde predomina el condroitín-sulfato y el diámetro de las fibras es pequeño, la apetencia predominante debiera corresponder al APA. En la profundidad, donde existe más cantidad de queratán-sulfato, el diámetro fibrilar es mayor y las apetencias más intensas corresponden al EB. Esta aparente contradicción en la zona superficial se deberá, probablemente, a que en el cartilago intacto los PG enmascaran al componente fibroso. Por lo tanto esta tinción será de mayor valor cuando previamente se haya producido una deplección de PG que deje visibles a las fibras.

Al considerar los efectos del entrenamiento sobre la composición de la matriz extracelular, volvemos a encontrar resultados tan diferentes que llegan a ser contradictorios. A excepción de LAMMI y cols. [1993] y KINCAID y van SICKLE [1982], que no encontraron afectación ni en la síntesis, ni en la concentración de PG tras el entrenamiento, el resto de autores sí encontraron modificaciones.

En general, cuando se trata de un entrenamiento leve o moderado, la concentración de PG en la matriz se incrementa [TAMMI y cols., 1983; PAUKKONEN y cols. 1984a; SÄÄMÄNEN y cols., 1988; KIVIRANTA y cols., 1988]. Este incremento no afecta a la totalidad del cartilago y presenta variaciones localizadas en las distintas regiones de la superficie articular y en las diferentes zonas: PAUKKONEN y cols. [1985] lo observaron en la zona superficial, mientras que KIVIRANTA y cols. [1988] y SÄÄMÄNEN y cols. [1989] demostraron un aumento significativo en las zonas II, III y calcificada de la región que soportaba más carga, no apreciándolo en la zona superficial.

Nuestros resultados son prácticamente similares a los de estos autores, aunque en nuestros animales se produjo un aumento generalizado de la apetencia por la Safranina O, lo que indica que el incremento de la concentración de PG tuvo lugar en la totalidad del cartilago. Sin embargo, es conveniente añadir que el mayor incremento afectó a la región de carga máxima, donde, además se puede observar una redistribución de manera que la Safranina O tiñe estratos más superficiales. En oposición al incremento generalizado de PG, pudimos comprobar una pérdida localizada de la apetencia por la Safranina O que coincidía con los defectos estructurales ubicados en las porciones más profundas de la zona III.

El incremento en la intensidad de la coloración también se produce en las muestras teñidas con HEA. La redistribución afecta, sobre todo, a las regiones que soportan menor carga y de manera distinta según se trate de la región anterior o posterior. En el primer caso, región 1, observamos que el APA alcanza niveles más superficiales. En el segundo, región 4, se incrementa el dominio del EB, que tiñe prácticamente toda la MIT.

En cambio, otros trabajos indican que el entrenamiento deprime el contenido de PG del cartílago [KRAUSE, 1969; VASAN, 1983; VIDEMAN y ERONEN, 1984; KEMPPINEN y cols., 1986; KIVIRANTA y cols., 1992; AROKOSKI y cols., 1993]. Esta respuesta también muestra variación topográfica y zonal. La reducción en la tinción con Safranina O es particularmente pronunciada en la zona más superficial, mientras que en el cartílago mineralizado presentaba una ligera disminución [KIVIRANTA y cols., 1988, 1992]. Al incrementarse la duración del ejercicio, la reducción en el contenido de GAG afectaba a estratos más profundos [AROKOSKI y cols., 1993]. En todos los casos, los mayores efectos se localizaban en las regiones que soportaban más cargas.

El incremento de PG puede deberse a un incremento en su producción. El leve aumento que se produce en el tamaño celular y en la cantidad de organelas intracelulares apoya la idea de que el entrenamiento es capaz de activar a las células del cartílago para sintetizar moléculas matriciales [PAUKKONEN y cols., 1984a; PAUKKONEN y HELMINEN, 1987a]. Cuando los animales son jóvenes, esqueléticamente inmaduros, la síntesis matricial puede superar a la degradación y asociarse con una mejoría en las propiedades biomecánicas del cartílago: mayor dureza en estas áreas [JURVELIN y cols., 1986a].

En cambio, la pérdida de PG en la zona superficial, como consecuencia del incremento de carga, se debe, probablemente, a una rotura de PG que no puede ser compensada por la neosíntesis de moléculas [KIVIRANTA y cols., 1992]. Esta síntesis y renovación de PG puede ocurrir como respuesta ante un aumento de su catabolismo [SANDY y cols., 1984; CARNEY y cols., 1992]. Sin embargo, a pesar de que la síntesis de PG esté aumentada, por estimulación de la actividad condrocitaria, resultaría insuficiente para mantener su concentración normal en la matriz extracelular [VASAN, 1983; AROKOSKI y cols., 1993].

La zona superficial sería la más afectada porque la liberación de metaloproteinasas, desde los condrocitos o desde el líquido sinovial, podría explicar la liberación de

PG desde el tejido al líquido sinovial [VIGNON y cols., 1987; PELLETIER y cols., 1988]. En cambio, la difusión de PG desde la matriz de las zonas más profundas sería más difícil. La pérdida de PG desde el tejido también podría estar incrementada por la ruptura de la red de colágeno [DONOHUE, 1983; BROOM, 1986b]. Sin embargo, SÄÄMÄNEN y cols. [1986] observaron un cartílago articular aparentemente normal, lo que les lleva a proponer que el ejercicio físico sistemático en animales jóvenes en crecimiento afecta primariamente al metabolismo de los PG antes que al del colágeno.

Para explicar la obtención de resultados tan distintos podríamos establecer la siguiente hipótesis. Como consecuencia de la realización de un entrenamiento determinado, se produciría un incremento en la síntesis de componentes matriciales en un intento de reposición, precisamente en aquellas regiones donde el aumento de las cargas es mayor. Esto representaría un intento de reparación inicial, que es tanto más evidente cuanto más joven es el animal y cuanto menos prolongado resulte el ejercicio. De tal manera que, si el entrenamiento se prolongase excesivamente, podríamos encontrarnos con dos posibilidades: que no resultase demasiado intenso y la actividad sintética fuese suficiente para mantener la integridad de la matriz, con lo que no se apreciarían modificaciones en su composición, o, que el entrenamiento fuese de tal intensidad que la actividad sintética no pudiese equilibrar la degradación matricial. En este segundo caso asistiríamos a un proceso destructivo del cartílago articular, agravado por el hecho de que los animales con el transcurso del tiempo van haciéndose mayores y su capacidad sintética iría disminuyendo.

La hipótesis del intento de reparación inicial que finalmente fracasa, coincidiría con los fenómenos descritos en la instauración de la osteoartrosis. En esta patología existe una pérdida generalizada de proteoglucano, una disminución en el contenido de ácido hialurónico del tejido [EGUCHI y cols., 1974], los agregados de proteoglucanos son más pequeños [ALTMAN y cols., 1984] y su capacidad de agregarse es menor [TESHINA y cols., 1983]. Sin embargo, en los momentos iniciales de su instauración podemos asistir a un aumento en la síntesis de PG [McDEVITT y MUIR, 1976; RYU y cols., 1984; SANDY y cols., 1984] y colágeno [LIPIELLO y cols., 1977; EYRE y cols., 1980; RONZIERE y cols., 1990], de tipo II en las zonas media y superior [AIGNER y cols., 1992]. Todo ello se produce en un intento de regeneración de la matriz y supone un incremento del grosor del cartílago articular, que le permitirá mantener su capacidad funcional a pesar de la presencia de una alteración mecánica persistente [BRAUNSTEIN y cols., 1990]. El cartílago osteoartrosico es capaz de conseguir una síntesis de PG cualitativamente casi normal mientras que en la matriz extracelular acontecen cambios degradativos postsintéticos. Como veremos más tarde, estos intentos fracasarán, pues el cartílago pierde su funcionalidad y la articulación su

integridad. [MOSKOWITZ y cols., 1982; GOLDBERG y cols., 1984].

La pérdida localizada de PG que acontece en los defectos estructurales situados en las porciones profundas de la región de máxima carga podrían tener un origen diferente, puesto que la matriz extracelular incrementa su contenido de PG en casi todos los lugares excepto aquí. Estas alteraciones se producen en el lugar del cartilago que soporta mayor cantidad de carga y que representa la interfase entre el cartilago no mineralizado y el estrato subyacente más rígido. Es muy probable que aquí, al igual que en el resto del tejido, se produzca una degradación mecánica de los PG. Sin embargo, no se producirían los efectos compensadores representados por un incremento de la síntesis. Esto podría deberse a un deficiente aporte de nutrientes en esta región que reconocería, al menos, dos orígenes. En primer lugar, una alteración del mecanismo de imbibición-extrusión, porque el engrosamiento tan considerable que sufre el cartilago en esta región hace que las moléculas provenientes del líquido sinovial tengan que recorrer una mayor distancia y su trayecto sea más dificultoso a causa del incremento de PG en la matriz suprayacente, que la vuelve más densa. En segundo lugar, es probable que el aumento de las fuerzas compresivas altere el aporte vascular que el cartilago articular recibe desde el compartimento subcondral. Esta última circunstancia explicaría también el retraso que aparece en el avance del frente de osificación, pues sabemos que la vascularización es imprescindible para la osificación y que su ausencia deriva en la permanencia de tejido cartilaginoso. En resumen, los elementos nutritivos que debieran llegar a los estratos profundos del cartilago articular desde el líquido sinovial y los metabolitos de deshecho que siguen el camino inverso, verían dificultado su tránsito y el aporte desde el compartimento subcondral también disminuiría por una alteración de la vascularización a este nivel.

V.5.- Características histológicas del tejido epifisario y del hueso subcondral

Tejido cartilaginoso epifisario

Los animales utilizados en nuestro estudio eran muy jóvenes y no habían completado la osificación de sus epífisis, por lo que aparecerán restos del tejido cartilaginoso epifisario localizados entre el estrato más profundo del cartilago articular (suprayacente) y el hueso subcondral (subyacente). Este tejido alcanza su máxima expresión en la región 2 y disminuye hacia los extremos anterior y posterior del cóndilo, donde llega a hacerse imperceptible. En su porción más gruesa presenta una capa superficial formada por células separadas de pequeño tamaño y un estrato profundo

compuesto por células de mayor tamaño que, ocasionalmente, forman grupos isogénicos. La matriz extracelular muestra una apetencia tintorial por la SO, ligeramente menor que en el cartilago mineralizado y por el APA.

Cuando los animales fueron sometidos a ejercicio sistemático el cartilago epifisario no sufrió modificaciones apreciables. Si acaso, allí donde ya existía adquirió un grosor mayor y mejor definición de sus estratos celulares. Da la impresión de que el entrenamiento hubiese producido un ligero retraso en su osificación.

Hueso subcondral

La distribución de las trabéculas y el porcentaje de osteoide, varían en las distintas regiones del cóndilo. Las trabéculas son más frecuentes y con una disposición más compleja en las regiones de mayor carga, donde no han alcanzado su osificación completa y cuya porción central está constituida por tejido osteoide. El grado de complejidad en la región 3, de máxima carga, nos permitiría considerarlas como verdaderas "masas trabeculares". En la región 2 encontramos una disposición ligeramente más sencilla con trabéculas de primer y segundo orden que alcanzan al cartilago en una disposición perpendicular u oblicua. A medida que nos acercamos a las regiones de menor carga (1 y 4), las trabéculas disminuyen en número y simplifican su disposición, hasta el extremo de que al llegar a la región 4, prácticamente no existen y el hueso subcondral se limita a una lámina ósea fina, de disposición paralela a la superficie.

Como resultado de la disposición descrita, se comprende fácilmente que el grado de interdigitación entre el cartilago y el compartimento óseo subcondral es mucho mayor en las regiones de carga elevada. Al mismo tiempo, en estas regiones se observa un retraso relativo en el avance del frente de osificación, cuando lo comparamos con las regiones que soportan menor carga.

Nosotros pensamos que la diferencia de comportamiento en las distintas regiones del cartilago puede deberse, entre otras razones, a que se trata de animales jóvenes, en los que el cartilago no es exclusivamente "articular" y se comporta, además, como "epifisario". En los lugares que sufren una mayor carga funcional, el cartilago debe aportar cualidades mecánicas diferentes, lo que consigue, en parte, a través de su engrosamiento. En cambio, en las regiones con menor carga, los requerimientos de índole mecánica son menores; estas circunstancias físicas facilitan el avance del frente de osificación subcondral y, consecuentemente, la reducción en el grosor del cartilago.

Las trabéculas óseas del compartimento subcondral suelen adoptar una disposición perpendicular a la superficie articular, y son más frecuentes, de menor grosor y menos osificadas en las regiones de mayor carga. Con el transcurso de la edad, en las regiones de menor carga tienden a ubicarse en una disposición más oblicua o paralela. Esta diferencia de comportamiento tiene su origen en las distintas condiciones mecánicas a que se ve sometido el tejido. Esta opinión coincide con la propuesta que hizo ROUX en 1895, según la cual, la diferenciación de los tejidos conjuntivos estaba controlada, en parte, por fuerzas mecánicas. Asimismo, estamos de acuerdo con CARTER y cols. [1987] cuando, profundizando en este postulado, afirman que la osificación endondral se podría promover mediante la aplicación intermitente de fuerzas de cizallamiento y que la compresión hidrostática intermitente inhibe la degeneración del cartilago y la osificación. Las primeras afectan a la región anterior del cóndilo, donde promoverían la osificación endondral y, en consecuencia, disminuirían el grosor del cartilago. Las segundas tienen lugar en la región posterior y, al inhibir la osificación, permiten que el grosor del cartilago sea mayor.

El mayor o menor avance de la osificación depende, por lo tanto, de las condiciones mecánicas existentes. Como se desprende de las observaciones de EGGLI y cols. [1988] y de nuestros propios resultados, el espesor del cartilago articular es mayor en los lugares de la articulación que soportan una mayor carga [EGGLI y cols., 1988], y afecta especialmente a la zona de cartilago calcificado [MÜLLER-GERBL y cols., 1987]. Aquellas situaciones que conllevan el adelgazamiento del cartilago articular (falta de estímulo mecánico, etc.) o su deterioro, van acompañadas de un aumento de la formación de hueso subcondral [MÜLLER-GERBL y cols., 1987; BENSKE y cols., 1988], que es tanto mayor cuanto más reciente es la causa y que puede llegar a superar tres o cuatro veces el patrón de crecimiento normal [BENSKE y cols., 1989].

Estamos de acuerdo con esta afirmación porque un grosor mayor puede deberse, entre otras razones, a una detención del frente de osificación. Sin embargo, nuestro estudio se realizó en animales de corta edad (no en adultos), en los que el establecimiento de la zona IV (cartilago mineralizado) acontecería con posterioridad a las edades contempladas.

PATURET en 1951 utilizó el término "*elemento anatómico*" para designar a toda pieza o porción de un aparato que presenta una constitución, estructura histológica y desempeña un papel fisiológico determinados. En el caso de los elementos anatómicos que integran una articulación, aunque por definición son diferentes, no dejan de estar

íntimamente emparentados basándose en su origen o procedencia y, en segunda instancia, a su arquitectura, que responde a los mismos principios. Esto puede apreciarse con claridad al observar como los componentes de un elemento anatómico se continúan con los de otro sin existir límites de demarcación netos entre ambos. Quizás pueda ser aventurado, pero resulta al menos tentador el establecer una relación entre lo expuesto y la similitud entre las formas de reacción, ya que todos los elementos de una articulación participan en la respuesta ante una noxa.

Según REDLER y cols. [1975], la integridad estructural entre el cartílago articular más adaptable y el rígido cartílago calcificado subyacente se lleva a cabo por continuidad de las fibras colágenas a través de la interfase entre estas dos capas. Además, es esencial que el cartílago articular, altamente adaptable, disponga de un anclaje seguro en su rígida base calcificada, que le permita soportar los distintos grados de carga mecánica a que está sometido durante el funcionamiento normal de la articulación. Los cambios repentinos en la adaptabilidad podrían estar asociados con cambios bruscos del nivel de estrés experimentado en el *tidemark* [BROOM y POOLE, 1982]. Hoy se acepta, de forma general, que el *tidemark* y el cartílago calcificado juegan un papel crucial en la transmisión de las fuerzas mecánicas desde el cartílago articular al hueso subcondral [ASKEW y MOW, 1978].

El enfrenamiento produce los cambios más significativos en la región 2, que adquiere un aspecto similar al de la región 3 de los animales controles. Esto podría ser debido a que la carga que recibe la región 2 de los animales entrenados sea similar a la de la región 3 de los controles. En cambio, la carga que recibe la región 3 de los entrenados puede superar los límites tolerados por el cartílago y causar las alteraciones que se encuentran en esta región.

El cartílago articular reduce el esfuerzo al incrementar la congruencia de las articulaciones [SIMON, 1971; BERNARD y cols., 1982]. Las superficies articulares normales no son completamente congruentes y eso motiva que en el momento de aplicar carga los contactos entre ellas tengan lugar en áreas limitadas [BULLOUGH y cols., 1968, 1973; BULLOUGH, 1989]. El engrosamiento de las áreas lateral y medial del cartílago del cóndilo y de la plataforma ósea subcondral, combinadas con la remodelación ósea acelerada, son mecanismos compensatorios y adaptativos para servir a la congruencia [OETTMEIER y cols., 1992b]. Las reacciones del hueso subcondral en respuesta a la carga son generalizadas. En casi todas las localizaciones se encuentra una remodelación ósea claramente acelerada, probablemente para proporcionar mayor cantidad de masa ósea subcondral. El diámetro de las trabéculas no varía, sin embargo, se forman nuevos puentes de hueso después de la carrera. Con microscopía óptica no

se observa ninguna microfractura trabecular [OETTMEIER y cols., 1992b].

Epílogo

Desafortunadamente, los estudios epidemiológicos no resultan concluyentes para esclarecer los efectos del entrenamiento sobre el cartílago articular. En muchos casos se utilizan conceptos como uso, desuso y abuso, sin tener en cuenta que, para relativizarlos, habrían de considerarse las características individuales de cada sujeto sometido a estudio, lo que complicaría en gran medida la homogeneización de las muestras. Para conseguirlo, sería deseable tener en cuenta la tipología individual, la clase, intensidad y frecuencia del entrenamiento, etc. Y aún así, la igualdad en las condiciones del entrenamiento no garantizaría la uniformidad de la muestra, porque la construcción y la mecánica del aparato locomotor no son idénticas en todos los individuos y, en consecuencia, tampoco lo serían las repercusiones que sufra. Por ello, llama poderosamente la atención que, en la mayor parte de los estudios en los que se analizan los efectos del entrenamiento sobre las articulaciones, no se tengan en cuenta estos factores. Además, las patologías o alteraciones que se diagnostican en estos estudios son enfermedades suficientemente manifiestas o evidentes, no pudiendo precisarse su momento de aparición ni la naturaleza de sus alteraciones más tempranas.

En lo que se refiere a los diversos estudios experimentales, observamos falta de unificación en los protocolos y, consecuentemente, resultados que pueden llegar a ser contradictorios. A todo ello podemos añadir que en muchos casos los exámenes histológicos se realizan de manera "cuasimecanizada", al menos, en todos aquellos aspectos que se relacionan con variables cuantificables, y siempre en detrimento de una observación directa y exhaustiva de la muestra. En estas circunstancias es fácil pasar por alto pequeños detalles histológicos que podrían orientar hacia una interpretación diferente de la globalidad de resultados. Por ejemplo, nos sorprende la facilidad con que se atribuye a un hallazgo el calificativo de beneficioso, cuando puede tratarse de una respuesta temprana a un estímulo, en un intento de reparación inicial que no va a fructificar y que terminarán en una alteración grave y definitiva del tejido.

En las investigaciones referidas a los efectos del ejercicio físico sistemático sobre el cartilago, llama la atención la ausencia de ciertos datos necesarios para establecer las condiciones y el tipo de entrenamiento al que son sometidos los animales experimentales. El entrenamiento excesivo, la práctica de ejercicios extenuantes, la adaptación escasa o insuficiente al entrenamiento, el estrés psicológico, son problemas que se deberían resolver mediante un cálculo correcto de factores tan importantes como

el volumen y la intensidad de las cargas, así como de su frecuencia de aplicación. La enorme variabilidad encontrada en cuanto a estos parámetros en la bibliografía existente permite que resultados aparentemente contradictorios adquieran su sentido mediante la interpretación del protocolo de entrenamiento.

La diferencia entre los resultados de los diferentes estudios mencionados podría ser explicada por los diseños experimentales:

- Las condiciones de la carrera: distancia, velocidad, dificultad añadida (pendiente del tapiz o lastre del animal, duración en el tiempo, etc.), son distintas para cada experiencia y en estas diferencias podrían estar las causas en la disparidad de los resultados.
- El ritmo de instauración del entrenamiento es importante y la carrera ha de comenzar gradualmente para evitar que un cartílago incompetente sufra daño si se aplica de manera intensa y brusca [PALMOSKI y BRANDT, 1981].
- La especie animal y la raza podrían afectar significativamente a la respuesta del cartílago.
- En los animales jóvenes, el cartílago articular sería menos vulnerable a la degeneración inducida por el estrés que en los animales de mayor edad [SÄÄMÄNEN y cols., 1988].
- La integridad de la matriz al comienzo del entrenamiento. En este sentido, se ha comprobado que la matriz del cartílago articular que se ha atrofiado a causa de una descarga previa, sufre daño provocado por un ejercicio de carrera, y no lo hace cuando se permite la libre deambulacion en una jaula [PALMOSKI y BRANDT, 1981].

Pensamos que siempre que se aborde el estudio del cartílago articular o del efecto de cualquier variable sobre el mismo, habrá que considerarlo en relación al resto del organismo. De tal manera que siempre será conveniente relativizar los resultados y hacer una interpretación conjunta y no aislada de todos los datos obtenidos. En este mismo sentido y para realizar una valoración ecuánime de los hallazgos, será aconsejable tener en cuenta la naturaleza heterogénea del cartílago articular, asumiendo su carácter anisotrópico y sus diferencias regionales.

En definitiva, el entrenamiento que realizaron los animales de nuestro experimento se mostró excesivo. No dudamos que los hallazgos obtenidos, tanto en aspectos macroscópicos como los estudios histológicos, pueden interpretarse como alteraciones de mal pronóstico. El retraso en el crecimiento de los animales, las alteraciones estructurales del tejido articular y las demás variaciones en sus características histológicas son datos que, interpretados conjuntamente permiten considerar el carácter pernicioso de nuestro entrenamiento. Probablemente, este daño se deba, sobre todo, a la extrema juventud de los animales y al inadecuado ritmo de implantación del entrenamiento.

No dudamos del efecto benefactor de la actividad física y del ejercicio en general, pero será muy conveniente adecuarlo siempre a las características y circunstancias individuales de cada sujeto en cada momento, sobre todo cuando significa una carga sistematizada.

VI.- Conclusiones

VI.- Conclusiones

Primera

La carrera continua, uniforme y estandarizada provoca un retraso en el ritmo de crecimiento de las ratas jóvenes que afecta a la longitud, al peso y al tamaño óseo. Esta alteración se hace evidente en la segunda semana de entrenamiento y se mantiene hasta el final.

Segunda

La desigualdad en el reparto de las cargas que soporta el cartilago del cóndilo femoral interno de la rata induce variaciones morfofuncionales regionales. De este modo, podemos definir una porción central, que ocupa aproximadamente el 60% de la superficie articular y soporta las mayores cargas y, dos porciones extremas que sufren cargas menores.

Tercera

La carrera continua, uniforme y estandarizada no produce variaciones ni en las dimensiones de la superficie articular del cóndilo femoral interno ni, en la distribución, tamaño y curvatura de las regiones morfofuncionales del cartilago.

Cuarta

Las características del cartilago articular del cóndilo femoral interno de la rata varían según la región estudiada. De manera que donde soportan más carga se encuentran mayor grosor, menor celularidad, mejor definición de las zonas I, II y III, con predominio de esta última, ausencia de "tidemark" y de zona IV. La actividad tincional por la Safranina O es más intensa y alcanza niveles más superficiales cuanto mayor sea la carga soportada por el cartilago.

Quinta

La carrera continua sistematizada induce modificaciones en las características normales del cartilago articular, de forma que se incrementan el grosor en la región de máxima carga, la celularidad en la región de carga intermedia, la definición histológica

zonal en las regiones donde la carga es más usual, con particular desarrollo de la zona radial, y la afinidad tintorial por la Safranina O que, además alcanza niveles más superficiales. El "tidemark" adquiere una mayor definición en las regiones que soportan menor carga, disminuye su multiplicidad donde aumenta y no existe en la región de máxima carga.

Sexta

La carrera continua sistematizada genera escasas alteraciones en la superficie del cartilago articular, pero origina graves defectos estructurales en la porción profunda de la zona III correspondiente a la región de máxima carga. La extensión y la intensidad de sus manifestaciones fueron distintas para cada animal. Estos defectos consistieron en la pérdida de apetencia matricial por la Safranina O, que permitió la visión de fibras de colágeno con un aspecto ondulado, la aparición de grandes espacios acelulares, en algunos casos debidos a necrosis celular, y una reorganización de la distribución celular. En algunos casos, junto a estas alteraciones coexisten grietas o dehiscencias perpendiculares a la superficie.

Séptima

El tejido cartilaginoso epifisario se ubica entre el cartilago articular y el hueso subcondral, presenta mayor grosor en las regiones que soportan menor carga y no sufre variaciones reseñables con el entrenamiento.

Octava

El hueso subcondral presenta variaciones que dependen de la carga soportada por cada región. Cuando la carga es poca está formado por una fina lámina dispuesta paralelamente a la superficie articular y presenta escasas interdigitaciones con el cartilago articular suprayacente. A medida que aumenta la carga, desaparece la continuidad de la lámina horizontal y aparecen trabéculas de disposición tanto más compleja y tanto más perpendiculares a la superficie articular cuanto mayor es la carga, al tiempo que se incrementa la frecuencia de las interdigitaciones osteocartilaginosas.

Con la carrera continua, uniforme y estandarizada se produce un retraso en el avance del frente de osificación en la región que soporta la máxima carga, donde aumenta la complejidad en la ramificación de las trabéculas. Simultáneamente, la región

de carga intermedia adquiere características similares a las que tiene la región de máxima carga en los animales no entrenados.

Novena

La valoración global de los efectos de la carrera continua sobre el cartilago articular del cóndilo femoral interno de la rata, nos permite establecer un mal pronóstico en cuanto a su evolución, por lo que hemos de concluir que el entrenamiento realizado tiene consecuencias perniciosas sobre la articulación de la rodilla en la rata inmadura.

VII.- Bibliografía

VII.- Bibliografía

- AARDEN LA. DE GROOTER. SCHAAP OL. LANSDORP PM. (1987). Production of hybridoma growth factor by human monocytes. *Eur. J. Immunol.* 17 (10), 1411-1416.
- ABE S. NAGAI Y. (1973). Evidence for the presence of a complex of collagenase with $\alpha 2$ -macroglobulin in human rheumatoid synovial fluid: a possible regulatory mechanism of collagenase activity in vivo. *J. Biochem.* 73 (4), 897-900.
- ADAMS JE. (1965). Injury to the throwing arm: a study of traumatic changes in the elbow joints of boy baseball players. *California Med.* 102, 127-129.
- ADDAR R. KESSLER E. GOLDBERG B. (1986). Evidence for a protein that enhances the activity of type I procollagen C-proteinase. *Collagen Relat. Res.* 6, 267-277.
- AHMED AM. BURKE DL. (1983). In-vitro measurement of static pressure distribution in synovial joints. Part I: Tibial surface of the knee. *J. Biomech. Eng.* 105, 216-225.
- AHMED AM. BURKE DL. YU A. (1983). In-vitro measurement of static pressure distribution in synovial joints. Part II: Retropatellar surface. *J. Biomech. Eng.* 105, 226-236.
- AIGNER T. REICHENBERGER E. BERTLING W. KIRSCH T. STÖB H. von der MARK K. (1993). Type X collagen expression in osteoarthritic and rheumatoid articular cartilage. *Virchows Archiv B [Cell] Pathol.* 63, 205-211.
- AIGNER T. STÖB H. WESELOH G. ZEILNER G. von der MARK K. (1992). Activation of collagen type II expression in osteoarthritic and rheumatoid cartilage. *Virchows Archiv [B] Cell Pathol.* 62, 337-345.
- AKESON WH. AMIEL D. WOO SL-Y (1980). Immobility effects on synovial joints. The pathomechanics of joint contracture. *Biorheology* 17, 95-102.
- AKESON WH. MIYASHITA C. TAYLOR TK. LAWDETTE D. AMIEL D. (1969). Experimental arthroplasty of the canine hip. Extracellular matrix composition in cup arthroplasty. *J. Bone Joint Surg.* 51-A, 149-164.
- AKIZUKI S. MOW VC. MULLER F. PITA JC. HOWEL DS. (1987). Tensile properties of human knee joint cartilage. II. Correlations between weight bearing and tissue pathology and the kinetics of swelling. *J. Orthop. Res.* 5, 173-186.
- AKIZUKI S. MOW VC. MULLER F. PITA JC. HOWELL DS. MANICOURT DH. (1986) Tensile properties of human knee joint cartilage. I. Influence of ionic conditions, weight bearing, and fibrillation on the tensile modulus. *J. Orthop. Res.* 4 (4), 379-392.
- ALBERTS B. BRAY D. LEWIS J. RAFF M. ROBERTS K. WATSON JD. (1983). *Molecular Biology of the Cell.* New York: Garland Publishing.
- ALI IV. MAUTNER V. LANZA R. HYNES RO. (1977). Restoration of normal morphology, adhesion and cytoskeleton in transformed cells by addition of a transformation-sensitive surface protein. *Cell* 11, 115-126.

- ALI SV. EVANŞ L. (1973). Enzymatic degradation of cartilage in osteoarthritis. *Fed. Proc.* 32, 1494-1498.
- ALTMAN RD. TENENBAUH J. LATTA L. RISKIN W. BLANCO LN. HOWELL DS. (1984). Biomechanical and biochemical properties of dog articular cartilage in experimentally induced osteoarthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 43, 83-90.
- ANDERSON CE. LUDOWIEG J. HARPER HA. (1964). The composition of the organic component of human articular cartilage. *J. Bone Joint Surg.* 46-A, 1176-1181.
- ARCHER CW. McDOWELL J. BAYLISS MT. STEPHENS MD. BENTLEY G. (1990). Phenotypic modulation in subpopulations of human articular chondrocytes in vitro. *J. Cell Sci.* 97, 361-371.
- ARGRAVES WS. PYTELA R. SUZUKI S. MILLAN JL. PIERSCHBACHER MD. RUOSLAHTI E. (1986). cDNA sequences from the alpha subunit of the fibronectin receptor predict a transmembrane domain and a short cytoplasmatic peptide. *J. Biol. Chem.* 261 (28), 12922-12924.
- ARGRAVES WS. SUZUKI S. ARAI H. THOMPSON K. PIERSCHBACHER MD. RUOSLAHTI E. (1987). Amino acid sequence of the human fibronectin receptor. *J. Cell Biol.* 105 (3), 1183-1190.
- ARMSTRONG CG. BAHRANI AS. GARDNER DL. (1979). "In vitro" measurement of articular cartilage deformations in the intact human hip joint under load. *J. Bone Joint Surg.* 61-A (5), 744-755.
- ARMSTRONG CG. MOW VC. (1980). Friction, lubrication and wear of synovial joints. En *Scientific Foundations of Orthopaedics and Traumatology*. (Ed.: R. Owen, J. Goodfellow & P. Bullough), pp. 223-232.
- ARMSTRONG CG. MOW VC. (1982). Variations in the intrinsic mechanical properties of human articular cartilage with age degeneration and water content. *J. Bone Joint Surg.* 64-A (1), 88-94.
- AROKOSKI J. JURVELIN J. KIVIRANTA I. TAMMI M. HELMINEN HJ. (1990). The effects of strenuous running exercise on the biomechanical properties of canine articular cartilage. *Periodicum Biologorum (Yugoslavia)* 92 (Suppl. 1), 38.
- AROKOSKI J. KIVIRANTA I. JURVELIN J. TAMMI M. HELMINEN HJ. (1993). Long-distance running causes site-dependent decrease of cartilage glycosaminoglycan content in the knee joints of beagle dogs. *Arthritis Rheum.* 36 (10), 1451-1459.
- ASKEW MJ. MOW VC. (1978). The biomechanical function of the collagen fibril ultrastructure of articular cartilage. *J. Biomech. Eng.* 100, 105-115.
- ASPDEN RM. HUKINS DWL. (1979). The lamina splendens of articular cartilage is an artefact of phase contrast microscopy. *Proceedings of the Royal Society of London.* B206. 109-113.
- ATHA DH. STEPHENS AW. ROSENBERG RD. (1984). Evaluation of critical groups required for the binding of heparin to antithrombin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81, 1030-1034.
- AYAD S. MARRIOTT A. MORGAN K. GRANT ME. (1989). Bovine cartilage types VI and IX collagens. Characterization of their forms in vivo. *Biochem J.* 262 (3), 753-761.
- AYDELOTTE MB. KUETTNER KE. (1985). A comparative study of cultures of chondrocytes isolated from different depths of articular cartilage. *Transactions*

- of the 31st Annual Meeting of the O.R.S. 102.
- AZZO W. WOESSNER JF Jr. (1986). Purification and characterization of an acid metalloproteinase from human articular cartilage. *J. Biol. Chem.* 261 (12), 5434-5441.
- BAKER JR. RODEN L. STOOLMILLER AC. (1972). Biosynthesis of chondroitin sulfate proteoglycan. Xylosil transfer to SMITH-degraded cartilage proteoglycan and other exogenous acceptor. *J. Biol. Chem.* 247 (12), 3838-3847.
- BAKER WC. THOMAS TG. KIRKALDY-WILLIS WH. (1969). Changes in the cartilage of the posterior intervertebral joints after anterior fusion. *J. Bone Joint Surg.* 51-B, 736-746.
- BALAZS EA. (1969). Some aspects of aging and radiation sensitivity of the intercellular matrix with special regard to hyaluronic acid in synovial fluid and vitreous. En *Thule International Symposia: Aging of Connective and Skeletal Tissue*. (Ed.: A. Engel & T. Larson), pp. 107-122. Stockholm: Nordiska Borkhandeln's Förlag.
- BALAZS EA. BLOOM GD. SWANN DA. (1966). Fine structure and glycosaminoglycan content of the surface layer of articular cartilage. *Fed. Proc.* 25, 1813-1816.
- BARKER SA. HAWKINS CF. HEWINS M. (1966). Mucopolysaccharides in synovial fluid: detection of chondroitin sulphate. *Ann. Rheum. Dis.* 25, 209-213.
- BARLAND P. NOVIKOFF AB. HAMERMAN D. (1962). Electron microscopy of the human synovial membrane. *J. Cell Biol.* 14, 207-220.
- BARLAND P. SMITH C. HAMERMAN D. (1968). Localization of hyaluronic acid in synovial cells by radioautography. *J. Cell Biol.* 37, 13-26.
- BARNETT CH. COCHRANE W. PALFREY AJ. (1963). Age changes in articular cartilage of rabbits. *Ann. Rheum. Dis.* 22, 389-399.
- BARNETT CH. DAVIES DV. McCONAILL MA. (1961). *Synovial Joints: Their Structure and Mechanics*. London: Longmans.
- BARRETT AJ. (1975). The enzymatic degradation of cartilage matrix. En *Dynamics of Connective Tissue Macromolecules*. (Ed.: PMC. Burleigh & R. Poole), pp. 189-215. Amsterdam: North Holland.
- BARRETT AJ. STARKEY PM. (1973). The interaction of $\alpha 2$ -macroglobulin with proteinases. Characteristics and specificity of the reaction and a hypothesis concerning its molecular mechanism. *Biochem. J.* 133 (4), 709-724.
- BASSET CAL. HERMANN I. (1961). Influence of oxygen concentration and mechanical factors on differentiation of connective tissues "in vitro". *Nature* 190, 460-461.
- BASSLEER R. LHOEST-GANTHIER MP. RENARD AM. HEINENE. GOESSINS G. (1982). Histological structure and functions of synovium. En *Articular Synovium* (Ed.: P. Franchimont), pp. 1-26. Basel: Karger.
- BAUER W. ROPES MW. WAINE H. (1940). Physiology of articular structures. *Physiol. Rev.* 20, 272-312.
- BAXTER E. FRASER JRE. HARRIS GS. (1973). Fractionation and recovery of secretion of synovial cells synthesized in culture with radioactive precursors. *Ann. Rheum. Dis.* 32, 35-40.

- BAYLISS MT. RIDGEWAY CD. ALI SY. (1983a). Differences in the rates of aggregation of proteoglycans from human articular cartilage and chondrosarcoma. *Biochem. J.* 215, 705-708.
- BAYLISS MT. RIDGEWAY CD. ALI SY. (1984). Delayed aggregation of proteoglycans in adult human articular cartilage. *Biosci. Rep.* 4, 827-833.
- BAYLISS MT. VENN M. MAROUDAS A. ALI SY. (1983b). Structure of proteoglycans from different layers of human articular cartilage. *Biochem. J.* 209, 387-400.
- BEHRENS F. KRAFT EL. OEGEMA TR. (1989). Biochemical changes in articular cartilage after joints immobilization by casting or external fixation. *J. Orthop. Res.* 7 (3), 335-343.
- BENJAMIN M. EVANS EJ. COPP L. (1986). The histology of tendon attachments to bone in man. *J. Anat.* 149, 89-100.
- BENNET GE. (1941). Shoulder and elbow lesions of the professional baseball pitcher. *JAMA.* 117, 510-514.
- BENNINGHOFF A. (1925). Form und Bau der Gelenkknorpel in ihren Beziehungen zur Funktion. II. Der Augban des Gelenkknorpels in Seinen Beziehungen zur Funktion. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 2, 783-862.
- BENSKE J. SCHUNKE M. TILLMAN B. (1988). Subchondral bone formation in arthrosis. Polychrome labeling studies in mice. *Acta Orthop. Scand.* 59 (5), 536-541.
- BENSKE J. SCHUNKE M. TILLMAN B. (1989). Polychrome sequential labeling of suchondral bone tissue in early and advanced stages of gonarthrosis in male STR/IN-mice. *Z. Orthop.* 127 (5), 616-619.
- BENYA PD. NIMNI ME. (1979). The stability of the collagen, glycosaminoglycan, and DNA synthesis by articular cartilage organ cultures. *Arch. Biochem. Biophys.* 192, 327-335.
- BERG RA. BIRF DE. SILVER FH. (1986). Physical characterization of type I procollagen in solution: evidence that the propeptides limit self-assembly. *Int. J. Biol. Macromol.* 8, 177-182.
- BERGRA. SCHWARTZ ML. CRYSTAL RG. (1980). Regulation of the production of secretory proteins: intracellular degradation of newly synthesized "defective" collagen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77 (8), 4746-4750.
- BERMAN P. GRAY P. CHEN E. KEYSER K. ERLICH D. KARTEN K. LaCORBIERE M. ESCH F. SCHUBER TD. (1987). Sequence analysis, cellular localization, and expression of a neuroretina adhesion and cell survival molecule. *Cell* 51 (1), 135-142.
- BERNARD PF. CHRISTEL PS. MEUNIER A. GRAS R. SEDEL L. (1982). Role of articular incongruence and cartilage thickness in hip joint stresses distribution. A biphasic and two dimensional photoelastic study. *Acta Orthop. Belg.* 48, 335-344.
- BICHAT FX. (1802). *Traité des Membranes en general et de diverses Membranes en particulier.* Paris: Chez Vve. Richard.
- BIENKOWSKI RS. (1983). Intracellular degradation of newly synthesized secretory proteins. *Biochem. J.* 214 (1), 1-10.
- BIENKOWSKI RS. (1984). Intracellular degradation of newly synthesized collagen. *Coll. Relat. Res.* 4 (5), 399-411.

- BIENKOWSKI RS. BAUM BJ. CRYSTAL RG. (1978). Fibroblasts degrade newly synthesized collagen within the cell before secretion. *Nature* 276 (5686), 413-416.
- BIRK DE. FITCH JM. BABIARZ JP. LINSENMAYER TF. (1988). Collagen type I and type V are present in the same fibril in the avian corneal stroma. *J. Cell Biol.* 106 (3), 999-1008.
- BIRK DE. SILVER FH. (1984). Collagen fibrillogenesis in vitro: comparison of I, II and III. *Arch. Biochem. Biophys.* 235, 172-185.
- BIRK DE. TRELSTAD RL. (1984). Extracellular compartments in matrix morphogenesis: collagen fibril, bundle and lamellar formation by corneal fibroblasts. *J. Cell Biol.* 99, 2024-2033.
- BIRK DE. TRELSTAD RL. (1986). Extracellular compartments in tendon morphogenesis: collagen fibril, bundle and macroaggregate formation. *J. Cell Biol.* 103, 231-240.
- BJELLE A. (1975). Content and composition of glycosaminoglycans in human knee joint cartilage. Variations with site and age in adults. *Connect. Tissue Res.* 31, 141-147.
- BJORENSEN JE. BERG NB. AUSTIN BP. (1986). Sulfate incorporation by mouse synovial cells in vivo. *Acta Anat.* 125 (4), 274-278.
- BLAIR MG. PIGMAN W. HOLLEY HL. (1961). The protein and carbohydrate-protein complexes of synovial fluids. *Arthritis Rheum.* 4, 612-623.
- BLAIR SN. KOHL HW. GORDON NF. PAFENBARGER RS. (1992). How much physical activity is good for health?. *Ann. Rev. Public. Health.* 13, 99-126.
- BLAU S. JANIS R. HAMERMAN D. SANDSON J. (1965). Origin of hyaluronate protein in the human synovial membrane. *Science* 150, 353-355.
- BLOEBAUM RD. WILSON AS. (1980). The morphology of the surface of articular cartilage in adult rats. *J. Anat.* 131, 333-346.
- BOND JS. BUTLER PE. (1987). Intracellular proteases. *Annu. Rev. Biochem.* 56, 333-364.
- BONNE F. BALDET P. BLOTMAN F. (1986). Biomecanique du tissu conjonctif. *Ann. Biol. Clin.* 44, 156-161.
- BORNSTEIN P. DUKSIN D. BALIAN G. DAVIDSON JM. CROUCH E. (1978). Organization of extracellular proteins on the connective tissue cell surface: relevance to cell-matrix interactions in vitro and in vivo. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 312, 95-105.
- BOURDON MA. KRUSIUS T. CAMPBELL S. SCHWARTZ N.B. RUOSLAHTI E. (1987). Identification and synthesis of a recognition signal for the attachment of glycosaminoglycans to proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84, 3194-3198.
- BOURDON MA. OLDBERG A. PIERSCHBACHER M. RUOSLAHTI E. (1985). Molecular cloning and sequence analysis of a chondroitin sulfate proteoglycan cDNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82, 1321-1325.
- BOURDON MA. SHIGA M. RUOSLAHTI E. (1986). Identification from cDNA of the precursors form of a chondroitin sulfate proteoglycan core protein. *J. Biol. Chem.* 261, 12534-12537.

- BOYDE A. JONES S. (1983). Electron microscopy of cartilage. En *Structure, Function and Biochemistry, vol.I* (Ed.: B.K. Hall), pp. 105-148. New York: Academic Press.
- BRAUNSTEIN EM. BRANDT KD. ALBRECHT M. (1990). MRI demonstration of hypertrophic articular cartilage repair in osteoarthritis. *Skeletal Radiol.* 19(5), 335-339.
- BRETTON RH. PENNYPACKER JP. (1989). Butyric acid causes morphological changes in cultured chondrocytes through alterations in the extracellular matrix. *J. Cell Physiol.* 138 (1), 197-204.
- BRIGHTON CT. KITAJIMA T. HUNT RM. (1984). Zonal analysis of cytoplasmic components of articular cartilage chondrocytes. *Arthritis Rheum.* 27, 1290-1299.
- BRIGHTON CT. LANE JM. KOH JK. (1974). "In vitro" rabbit articular cartilage organ model. II. ³⁵S incorporation in various oxygen tensions. *Arthritis Rheum.* 17, 245-252.
- BROOM ND. (1982). Abnormal softening in articular cartilage - its relationship to the collagen framework. *Arthritis Rheum.* 25, 1209-1216.
- BROOM ND. (1984). The altered biomechanical state of human femoral head osteoarthritic articular cartilage. *Arthritis Rheum.* 27, 1028-1039.
- BROOM ND. (1986a). The collagenous architecture of articular cartilage. A synthesis of ultrastructure and mechanical function. *J. Rheum.* 13 (1), 142-152.
- BROOM ND. (1986b). Structural consequences of traumatising articular cartilage. *Ann. Rheum. Dis.* 45 (3), 225-234.
- BROOM ND. MARRA DL. (1985). New structural concepts of articular cartilage demonstrated with a physical model. *Connect. Tissue Res.* 14, 1-8.
- BROOM ND. MARRA DL. (1986). Ultrastructural evidence for fibril-to-fibril associations in articular cartilage and their functional implication. *J. Anat.* 146, 185-200.
- BROOM ND. MYERS DB. (1980a). Fibrous waveforms or crimp in surface and sub-surface layers of hyaline cartilage maintained in its wet functional condition. *Connect. Tissue Res.* 7, 165-175.
- BROOM ND. MYERS DB. (1980b). A study of the structural response of wet hyaline cartilage to various loading situations. *Connect. Tissue Res.* 7, 227-237.
- BROOM ND. POLE CA. (1982). A functional-morphological study of the tidemark region of articular cartilage maintained in a non-viable physiological condition. *J. Anat.* 135 (1), 65-82.
- BROOM ND. POLE CA. (1983). Articular cartilage collagen and proteoglycans. Their functional interdependency. *Arthritis Rheum.* 26, 1111-1119.
- BROWN CC. BALIAN G. (1987). Effect of heparin on synthesis of short chain collagen by chondrocytes and smooth muscle cells. *J. Cell Biol.* 105, 1007-1012.
- BROWN DL. COOPER ASG. BLUESTONE R. (1969). Exchange of IgM and albumin between plasma and synovial fluid in rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 20, 644-651.
- BROWN RA. JONES KL. (1990). The synthesis and accumulation of fibronectin by human articular cartilage. *J. Rheumatol.* 17 (1), 65-72.

- BROWN TD. SHAW DT. (1984). In vitro contact stress distribution on the femoral condyles. *J. Orthop. Res.* 2, 190-199.
- BRUCKNER P. VAUGHAN L. WINTERHALTER KH. (1985). Type IX collagen from sternal cartilage of chick embryo contains covalently bound glycosaminoglycans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82, 2608-2612.
- BRUNS RR. PRESS W. ENGVALL E. TIMPL R. GROSS J. (1986). Type VI collagen in extracellular, 100 nm periodic filaments and fibrils. Identification by immunoelectron microscopy. *J. Cell Biol.* 103 (2), 393-404.
- BUCK CA. HORWITZ AF. (1987a). Cell surface receptors for extracellular matrix molecules. *Annu. Rev. Cell. Biol.* 3, 179-205.
- BUCK CA. HORWITZ AF. (1987b). Integrin, a transmembrane glycoprotein complex mediating cell-substratum adhesion. *J. Cell Sci.* 8 (suppl), 231-150.
- BUCKWALTER JA. (1983). The structure of human chondrosarcoma proteoglycans. *J. Bone Joint Surg.* 65-A, 858-874.
- BUCKWALTER JA. (1992). Mechanical injuries of articular cartilage. En *Biology and biomechanics of the traumatized synovial joint*. (Ed.: G. Finerman), pp. 83-96. Park Ridge, Illinois: American Academy of Orthopaedic Surgeons.
- BUCKWALTER JA. (1995). Activity vs. rest in the treatment of bone, joint and soft tissue injuries. *Iowa Orthop. J.* 15, 29-42.
- BUCKWALTER JA. DREZ DA. GARRETT WW. PAULOS LE. (1990a). Articular surface injuries. Meeting Abstracts. Simposia and Instructional Courses. 16yh Annual Meeting of the American Orthopaedic Society for Sports Medicine. 55-56.
- BUCKWALTER JA. LANE NE. (1996). Aging, sports and osteoarthritis. *Sports Medicine and Arthroscopy Review.* 4, 276-287.
- BUCKWALTER JA. LANE NE. GORDON SL. (1995). Exercise as cause of osteoarthritis. En *Osteoarthritic disorders*. (Ed.: KE. Kuettner & VM. Goldberg), pp. 405-417. Rosemont, Illinois: American Academy of Orthopaedic Surgeons.
- BUCKWALTER JA. MARTIN JA. (1995). Degenerative joint disease. En *Clinical Symposium*. Summit, New Jersey: Ciba Geigy, 2-32.
- BUCKWALTER JA. MOW WC. (1992). Cartilage repair in osteoarthritis. En *Osteoarthritis: Diagnosis and management*, 2nd. ed. (Ed.: RW Moskowitz, DS Howell, VM Goldberg & HJ Mankin), pp. 71-107. Philadelphia: WB Saunders.
- BUCKWALTER JA. ROSENBERG LC. (1982). Electron microscopic studies of cartilage proteoglycans: Direct evidence for the variable length of the chondroitin sulfate rich region of the proteoglycan subunit core protein. *J. Biol. Chem.* 257, 9830-9839.
- BUCKWALTER JA. ROSENBERG LC. (1983). Structural changes during development in bovine fetal epiphyseal cartilage: Electron microscopic studies of proteoglycan monomers and aggregates. *Collagen Rel. Res.* 3, 489-504.
- BUCKWALTER JA. ROSENBERG LC. (1988). Electron microscopic studies of cartilage proteoglycans. *Electron Microsc. Rev.* 1, 87-112.

- BUCKWALTER JA. ROSENBERG LC. HUNZIKER E. (1990b). Articular cartilage: composition, structure, response to injury and methods of facilitating repair. En *The Science of Arthroscopy*. (Ed.: JW Ewing), pp. 19-56. New York: Raven Press.
- BUCKWALTER JA. ROSENBERG LC. TANG L-H. (1984). The effect of link protein on proteoglycan aggregate structure. An electron microscopic study of the molecular architecture and dimensions of proteoglycan aggregates reassembled from the proteoglycan monomers and link proteins of bovine fetal epiphyseal cartilage. *J. Biol. Chem.* 259, 5361-5363.
- BUCKWALTER JA. ROSENBERG LC. UNGARR R. (1987). Changes in proteoglycan aggregates during cartilage mineralization. *Calcif. Tissue Int.* 41 (4), 228-236.
- BUCKWALTER JA. ROUGHLEY PJ. (1987). Age related changes in human articular cartilage proteoglycans. *Transactions 33rd Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society* 12, 152.
- BUCKWALTER JA. ROUGHLEY PJ. ROSENBERG LC. (1994). Age-related changes in cartilage proteoglycans: quantitative electron microscopic studies. *Microsc. Res. Tech.* 28, 398-408.
- BUCKWALTER JA. WOO SL-Y. GOLDBERG VM. HADLEY EC. BOOTH R. OEGEMA TR. EYRE DR. (1993). Soft-tissue aging and musculoskeletal function. *J. Bone Joint Surg. [Am.]* 75, 1533-1548.
- BULLOUGH PG. (1989). Joint anatomy and histological changes related to the causation of OA. En *Mechanisms of Articular Cartilage Damage and Repair*. (Ed.: H. Muir, K Hirobata, K Shichikawa), pp. 43-55. Toronto: Hogrefe & Huber Publishers.
- BULLOUGH PG. BRAWER FU. (1993). Age-related changes in articular cartilage. En *Soft tissue ageing: impact on musculoskeletal function and movility*. (Ed.: JA Buckwalter, VM Goldberg & SL-Y Woo), pp. 117-135. Rosemont, Illinois: American Academy of Orthopaedic Surgeons.
- BULLOUGH PG. GOODFELLOW JW. (1968). The significance of the fine structure of articular cartilage. *J. Bone Joint Surg. 50-B (4)*, 852-857.
- BULLOUGH PG. GOODFELLOW JW. GREENWALD AS O'CONNOR J. (1968). Incongruent surfaces in the human hip joint. *Nature* 217 (135), 1290.
- BULLOUGH PG. GOODFELLOW JW. O'CONNOR JJ. (1973). The relationship between degenerative changes and load bearing in the human hip. *J. Bone Joint Surg [Br]* 55, 746-758.
- BULLOUGH PG. YAWITZ PS. TAFRA L. BOSKEY AL. (1985). Topographical variations in the morphology and biochemistry of adult canine tibial plateau articular cartilage. *J. Orthop. Res.* 3, 1-16.
- BUNNING RA. CRAWFORD A. RICHARDSON HJ. OPDENAKKER G. van DAMME J. RUSSELL RG. (1987). Interleukin 1 preferentially stimulates the production of tissue-type plasminogen activator by human articular chondrocytes. *Biochim. Biophys. Acta* 924 (3), 473-482.
- BURGESON RE. (1988). New collagens, new concepts. *Annu. Rev. Cell. Biol.* 4, 551-577.
- BURRIDGE K. FATH K. KELLY T. NUCKOLLS G. TURNER CH. (1988). Focal adhesions: transmembrane junctions

- between the extracellular matrix and the cytoskeleton. *Ann. Rev. Cell Biol* 4, 487-525.
- BURTON-WURSTERN N. BUTLER M. HARTER S. COLOMBO C. QUINTAVALLA J. SWARTZENDRUBER D. ARSENIS CH. LUST G. (1986). Presence of fibronectin in articular cartilage in two animal models of osteoarthritis. *J. Rheumatol.* 13 (1), 175-182.
- BURTON-WURSTERN N. HORN VJ. LUST G. (1988). Immunohistochemical localization of fibronectin and chondronectin in canine articular cartilage. *J. Histochem. Cytochem.* 36 (6), 581-588.
- BUTLER WT. FINCH JE. MILLER EJ. (1977). The covalent structure of cartilage collagen. Evidence for sequence heterogeneity of bovine $\alpha 1(\text{II})$ chains. *J. Biol. Chem.* 25, 639-643.
- BYWATERS EGL. (1937). The metabolism in joints tissues. *J. Pathol. Bacteriol.* 44, 247-268.
- CAMERON DA. ROBINSON RA. (1958). Electron microscopy of epiphyseal and articular cartilage matrix in the femur of the newborn infant. *J. Bone Joint Surg.* 40-A, 163-168.
- CAMOSSO ME. MAROTTI G. (1962). The mechanical behavior of articular cartilage under compressive stress. *J. Bone Joint Surg.* 44-A (4), 699-709.
- CAMPBELL EJ. CURY JD. LAZARUS CJ. WELGUSH HG. (1987). Monocyte procollagenase and tissue inhibitor of metalloproteinases. Identification, characterization, and regulation of secretion. *J. Biol. Chem.* 262 (33), 15862-15868.
- CAMPBELL IK. GOLDS EE. MORT JS. ROUGHLEY PJ. (1986a). Human articular cartilage secretes characteristic metal-dependent proteinases upon stimulation by mononuclear cell factor. *J. Rheumatol.* 13, 20-27.
- CAMPBELL IK. MORT JS. GOLDS EE. ROUGHLEY PJ. (1986b). Mononuclear cell factor modulates the concomitant release of proteoglycan and latent proteinase by human articular cartilage in organ culture. *Agents and Actions* 18, 43-46.
- CAMPBELL IK. ROUGHLEY PJ. MORT JS. (1986c). The action of human articular cartilage metalloproteinase on proteoglycan and link protein. Similarities between products of degradation "in situ" and "in vitro". *Biochem. J.* 237, 117-122.
- CARNEMOLLA B. CUTOLO M. CASTELLANI P. BALZA E. RAFFANTI S. ZARDI L. (1984). Characterization of synovial fluid fibronectin from patients with rheumatic inflammatory diseases and healthy subjects. *Arthritis Rheum.* 27 (8), 913-921.
- CARNEY SL. BILLINGHAM MJ. CATERSON B. RATCLIFFE A. BAYLISS MT. HARDINGHAM TE. MUIR IHM. (1992). Changes in proteoglycan turnover in experimental canine osteoarthritic cartilage. *Matrix* 12, 137-146.
- CARNEY SL. MUIR IHM. (1988) The structure and function of cartilage proteoglycans. *Physiol. Rev.* 68 (3), 858-910.
- CARROLL GJ. (1987). Spectrophotometric measurement of proteoglycans in osteoarthritic synovial fluid. *Ann. Rheum. Dis.* 46, 375-379.

- CARSONS S. HORN VJ. (1988). Chondronecrotin in human synovial fluid. *Ann. Rheum. Dis.* 47, 797-800.
- CARTER DR. ORR TE. FYHRIE DP. SCHURMAN DJ. (1987). Influences of mechanical stress on the prenatal and postnatal skeletal development. *Clin. Orthop.* 219, 237-250.
- CARTER DR. WONG M. (1988). The role of mechanical loading histories in the development of diarthrodial joints. *J. Orthop. Res.* 6, 804-816.
- CARTER WG. (1982). Transformation-dependent alterations in glycoproteins of extracellular matrix of human fibroblasts. *J. Biol. Chem.* 257, 13805-13815.
- CASTAGNOLA P. MORO G. DESCALZICANCEDDA F. CANCEDDA R. (1986). Type X collagen synthesis during in vitro development of chick embryo tibial chondrocytes. *J. Cell Biol.* 102, 2310-2317.
- CASTAÑO-OREJA MT. (1992). Estudio de la influencia de la radiación láser en la evolución de las lesiones experimentales del cartilago articular. *Tesis Doctoral*. Universidad de Santiago de Compostela.
- CASTAÑO-OREJAMT. QUINTÁNS-RODRIGUEZ M. CRESPO ABELLEIRA A. GIRALDEZ-GARCÍA M.A. SAAVEDRA-GARCÍA M.A. JORGE BARREIRO J. (1995) Variation in articular cartilage in rabbits between weeks six and eight. *Anat. Rec.* 241, 34-38.
- CASTOR CW. YARON M. (1976). Connective tissue activation. VIII. The effects of temperature studied in vitro. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 57 (1), 5-9.
- CATERSON B. LOWTHER DA. (1978). Changes in the metabolism of the proteoglycans from sheep articular cartilage in response to mechanical stress. *Biochim. Biophys. Acta* 540, 412-422.
- CAWSTON TE. MURPHY G. MERCER E. GALLOWAY WA. HAZELMAN BL. REYNOLDS JJ. (1983). The interaction of purified rabbit bone collagenase with purified rabbit bone metalloproteinase inhibitor. *Biochem. J.* 211 (2), 313-318.
- CECERE F. LESSARD J. McDUFFY S. POPE RM. (1982). Evidence for the local production and utilization of immune reactants in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 25 (11), 1307-1315.
- CHAMBERLAIN MA. PETTS V. COLLINS E. (1972). Transport of intravenously-injected ferritin across the guinea-pig synovium. *Ann. Rheum. Dis.* 31, 493-499.
- CHANDRASEKHAR S. LAURIE GW. CANNON FB. MARTIN GR. KLEINMAN HK. (1986). In vitro regulation of cartilage matrix assembly by a Mr 54,000 collagen-binding protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83, 5126-5130.
- CHIN JR. MURPHY G. WERB Z. (1985). Stromelysin, a connective tissue-degrading metalloendopeptidase secreted by stimulated rabbit synovial cells in parallel with collagenase. Biosynthesis, isolation, characterization and substrates. *J. Biol. Chem.* 260 (22), 12367-12376.
- CHIQUET M. FAMBROUGH DM. (1984). Chick myotendinous antigen II. A novel extracellular glycoprotein complex consisting of large disulphide-linked subunits. *J. Cell Biol.* 98, 1937-1946.
- CHIQUET-EHRISMAN R. (1990). What distinguishes tenascin from fibronectin. *FASEB J.* 4, 2598-2602.

- CHRISTMAN OD. SOUTHWICK WO. FESSEL JM. (1962). Plasmin and articular cartilage. *Yale J. Biol. Med.* 34, 524-528.
- CHU ML. CONWAY D. PAN T. BALDWIN C. MANN K. DEUTZMANN R. TIMPL R. (1988). Amino acid sequence of the triple-helical domain of human collagen type VI. *J. Biol. Chem.* 263 (35), 18601-18606.
- CHU ML. PAN TC. CONWAY D. KUO HJ. GLANVILLE RW. TIMPL R. MANN K. DEUTZMANN R. (1989). Sequence analysis of $\alpha 1(VI)$ and $\alpha 2(VI)$ chains of human type VI collagen reveals internal triplication of globular domains similar to the A domains of von WILLEBRAND factor and two $\alpha 2(VI)$ chain variants that differ in the carboxy terminus. *EMBO J.* 8 (7), 1939-1946.
- CLARKE IC. (1971a). Human articular surface contours and relates surface depression frequency studies. *Ann. Rheum. Dis.* 30, 15-23.
- CLARKE IC. (1971b). A method for the replication of articular surfaces suitable for the scanning electron microscope. *J. Microsc.* 93, 67-71.
- CLARKE IC. (1971c). Surface characteristics of human articular cartilage: a scanning electron microscopy study. *J. Anat.* 108 (1), 23-30.
- CLARKE IC. (1971d). Articular cartilage: a review and scanning electron microscope study. I. The interterritorial fibrillar architecture. *J. Bone Joint Surg.* 53B (4), 732-750.
- CLARKE IC. (1973). Correlation of SEM replication and light microscopy studies of the bearing surfaces in human joints. *En Scanning Electron Microscopy, vol. III.* (Ed.: O. Johari & J. Corvin), pp. 659-666. IIT Research Institute.
- CLARKE IC. (1974). Articular cartilage: a review and scanning electron microscope study. II. The territorial fibrillar architecture. *J. Anat.* 118 (2), 261-280.
- CLEMENT BS. (1989). Biology of the Joint. *En Textbook of Rheumatology.* (Ed.: WN. Kelley, ED. Harris, S. Ruddy & CB. Sledge) cap. 1., pp. 1-15, Philadelphia, London, Toronto: W.B. Saunders.
- CLEMMENSEN I. HOLUND B. ANDERSEN RB. (1983). Fibrin and fibronectin in rheumatoid synovial membrane and rheumatoid synovial fluid. *Arthritis Rheum.* 26 (4), 479-485.
- CLEMMENSEN I. HOLUND B. JOHANSEN M. ANDERSEN RB. (1982). Demonstration of fibronectin in human articular cartilage by an indirect immunoperoxidase technique. *Histochemistry* 76 (1), 51-56.
- COLLEN D. (1987). Molecular mechanisms of fibrinolysis and their application to fibrin-specific thrombolytic therapy. *J. Cell Biochem.* 33 (2), 77-86.
- COLLIER IE. WILHELM SM. EISEN AZ. MARMER BL. GRANT GA. SELTZER JL. KRONBERGER A. HE C. BAUER EA. GOLDBERG GL. (1988). H-ras Oncogen-transformed human bronchial epithelial cells (TBE-1) secrete a single metalloprotease capable of degrading basement membrane collagen. *J. Biol. Chem.* 263 (14), 6579-6587.
- COLLIER S. GHOSH P. (1988). The role of Plasminogen in interleukin-1 mediated cartilage degradation. *J. Rheumatol.* 15 (7), 1129-1137.

- COLLINS DH. (1949). *The Pathology of Articular and Spinal Diseases*. London: Edward Arnold.
- COLOMBO C. BUTLER M. HICKMAN L. (1983). A new model of osteoarthritis in rabbits. II. Evaluation of antiosteoarthritic effects of selected antirheumatic drugs administered systematically. *Arthritis Rheum.* 26, 1132-1139.
- COMPER WD. LAURENT TC. (1978). Physiological function of connective tissue polysaccharides. *Physiol. Rev.* 58, 255-315.
- COX MJ. McDEVITT CA. ARNOCK SP. WARREN RL. (1985). Changes in the chondroitin sulfate-rich region of articular cartilage proteoglycans in experimental osteoarthritis. *Biochim. Biophys. Acta.* 840, 228-234.
- DAVIES DV. (1950). Structure and function of synovial membrane. *Br. Med. J.* 1, 92-95.
- DAVIES DV. BARNETT CH. COCHRANE W. PALFREY AJ. (1962). Electron Microscopy of articular cartilage in the young adult rabbit. *Ann. Rheum. Dis.* 21, 11-21.
- DAVIES DV. PALFREY AJ. (1971). The fine structure of normal and rheumatoid synovial membrane. *Mod. Trends Rheumatol.* 2, 1-20.
- DAYER JM. RICARD-BLUM S. KAUFMANN MT. HERBAGE D. (1986). Type IX collagen is a potent inducer of PGE₂ and interleukin I production by human monocyte macrophages. *FEBS Lett* 198, 208-212.
- DEANDD. MARTEL-PELLETIER J. PELLETIER JP. HOWELL DS. WOESSNER JF. (1989). Evidence for metalloproteinase and metalloproteinase inhibitor imbalance in human osteoarthritic cartilage. *J. Clin. Invest.* 84, 678-685.
- DECKER B. McKENZIE BF. McGUICKIN WF. (1959). Comparative distribution of proteins and glycoproteins of serum and synovial fluid. *Arthritis Rheum.* 2, 162-177.
- DEHMP. PROCKOPDJ. (1973). Biosynthesis of cartilage procollagen. *Eur. Biochem.* 35, 159-166.
- DEKEL S. WEISSMAN SL. (1978). Joint changes after overuse and peak overloading of rabbit knees in vivo. *Acta Orthop. Scand.* 49, 519-528.
- De PEDRO JA. CASTRESANA FG. CUADRADO MA. MOSCARDÓ E. NORIEGA M. MARCO F. NAVARRETE FG. DURÁN LL. (1989). Evaluación biológica del líquido sinovial. *Rev. Esp. Cir. Osteoart.* 139 (24), 1-10.
- De WITT MT. HADLEY CJ. OAKES BW. LOWTHER DA. (1984). In vitro response of chondrocytes to mechanical loading. The effect of short term mechanical tension. *Connect. Tissue Res.* 12, 97-109.
- DESCALZI-CANCEDDA F. GENTILI C. MANDUCA P. CANCEDDA R. (1992). Hypertrophic chondrocytes undergo further differentiation in culture. *J. Cell Biol.* 117, 427-435.
- DESSAU W. SASSE J. TIMPL R. JILEK F. von der MARK K. (1978). Synthesis and extracellular deposition of fibronectin in chondrocyte cultures. *J. Cell Biol.* 79, 342-355.
- DETHMERS DA. TORZILLI PA. SCHRYVER HF. ROSE D. BURSTEIN AH. (1981). Water transport in unloaded and loaded articular cartilage. *Trans. Ann. Meet. Orthop. Res. Soc.* 6, 123.

- DEWHIRST FE. STASHENKO PP. MOLE JE. TSURUMACHI T. (1985). Purification of human osteoclast-activating factor: identify with interleukin 1 beta. *J. Immunol.* 135, 2562-2568.
- DINARELLO CA. CANNON JG. WOLFF SM. BERNHEIM HA. BEUTLER B. CERAMI A. FIGARI IS. PALLADINO MA. O'CONNOR JV. (1986). Tumor necrosis factor (cachectin) is an endogenous pyrogen and induces production of interleukin 1. *J. Exp. Med.*, 163, 1433-1450.
- DINGLE JT. DINGLE TT. (1980). The site of cartilage matrix degradation. *Biochem. J.* 190, 431-438.
- DINGLE JT. SAKLATVALA J. HEMBRY R. TYLER J. FELL HB. JUBB R. (1979). A cartilage catabolic factor from synovium. *Biochem. J.* 184 (1), 177-180.
- DEXIT VM. GRANT GA. SANTORO SA. FRAZIER WA. (1984). Isolation and characterization of heparin binding domain from the amino terminus of platelet thrombospondin. *J. Biol. Chem.* 259, 10100-10105.
- DOEGE K. SASAKI M. HORIGAN E. HASSELL JR. YAMADA Y. (1987). Complete primary structure of the rat cartilage proteoglycan core protein deduced from cDNA clones. *J. Biol. Chem.* 262, 17757-17767.
- DOMINICE J. LEVASSEUR C. LARNO S. RONOT X. ADOLPHE M. (1986). Age-related changes in rabbit articular chondrocytes. *Mech. Aging Dev.* 37, 231-240.
- DONOHUE JM. (1983). The effects of indirect blunt trauma on adult canine articular cartilage. *J. Bone Joint Surg. [Am.]* 65,948-957.
- DUNHAM J. SHACKELTON DR. NAHIR AM. BILLINGHAM MEJ. BITENSKY L. CHAYEN J. MUIR IHM. (1985). Altered orientation of glycosaminoglycans and cellular changes in the tibial cartilage in the first two weeks of experimental canine osteoarthritis. *J. Orthop. Res.* 3, 258-268.
- EGGLI PS. HUNZIKER EB. SCHENK RK. (1988). Quantitation of structural features characterizing weight- and less-weight-bearing regions in articular cartilage: a stereological analysis of femoral condyles in young adult rabbits. *Anat. Rec.* 222, 217-227.
- EGUCHI M. SAITA YSH. MATSUMOTO S. NISHIO A. (1974). The glycosaminoglycans of articular cartilage in relation to age and osteoarthritis. *Calcif. Tissue Res.* 15a, 169-173.
- EHRlich MG. (1985). Degradative enzyme systems in osteoarthritic cartilage. *J. Orthop. Res.* 3, 170-184.
- EHRlich MG. MANKIN HJ. JONES H. GROSSMAN A. CRISPEN C. ANCONAD. (1975). Biochemical confirmation of an experimental osteoarthritis model. *J. Bone Joint Surg.* 57-A, 392-396.
- ELMORE SM. SOKOLOFF L. NORRIS G. CARMECI P. (1963). Nature of imperfect elasticity of articular cartilage. *J. Appl. Physiol.* 18, 393-396.
- ELLINGSWORTH LR. BRENNAN JE. FOK K. ROSEN DM. BENTZ H. PIEZ KA. SEYEDIN SM. (1986). Antibodies to the N-terminal portion of cartilage-inducing factor A and transforming growth factor beta. Immunohistochemical localization

- and association with differentiating. *J. Biol. Chem.* 261 (26), 12361-12367.
- ELLIOT RJ. GARDNER DL. (1979). Changes with age in the glycosaminoglycans of human articular cartilage. *Ann. Rheum. Dis.* 38, 371-377.
- ENGVALL E. HESSLE H. KLIER G. (1986). Molecular assembly, secretion and matrix deposition of type VI collagen. *J. Cell. Biol.* 102 (3), 703-710.
- ENGVALL E. RUOSLAHTI E. (1977). Bindings of soluble form of fibroblast surface protein, fibronectin, to collagen. *Int. J. Cancer* 20 (1), 1-5.
- ENNEKING WF. HOROWITZ M. (1972). The intra-articular effects of immobilization on the human knee. *J. Bone Joint Surg.* 54-A, 973-985.
- ERICKSON HP. BOURDON MA. (1989). Tenascin: an extracellular matrix protein prominent in specialized embryonic tissues and tumours. *Ann. Rev. Cell Biol.* 5, 71-92.
- ERONEN I. VIDEMAN T. FRIMAN C. MICHELSSON J. (1978). Glycosaminoglycan metabolism in experimental osteoarthritis caused by immobilization. *Acta Orthop. Scand.* 49, 329-334.
- ESKO JD. ELGAVISH A. PRASTHOFFER T. TAYLOR WH. WEINKE JL. (1986). Sulfate transport-deficient mutants of Chinese hamster ovary cells. *J. Biol. Chem.* 261, 15725-15733.
- ESKO JD. WEINKE JL. TAYLOR WH. EKBORG G. RODEN L. ANANTHARAMAIAH G. GAWISHA. (1987). Inhibition of chondroitin and heparan sulfate biosynthesis in Chinese hamster ovary cell mutants defective in galactosyltransferase I. *J. Biol. Chem.* 262 (25), 12189-12195.
- EVANS EB. EGGERS GWN. BUTLER JK. BLUMEL J. (1960). Experimental immobilization and remobilization of rat knee joint.
- EVANS HB. AYAD S. ABEDIN MZ. HOPKINS S. MORGANK. WALTON KW. WEISS JB. HOLT JL. (1983). Localization of collagen types and fibronectin in cartilage by immunofluorescence. *Ann. Rheum. Dis.* 42, 575-581.
- EYRE DR. APONE S. WU JJ. ERICSSON LH. WALSHKA. (1987a). Collagen type IX: evidence for covalent linkages to type II collagen in cartilage. *FEBS Lett.* 220 (2), 337-341.
- EYRE DR. McDEVITT CA. BILLINGHAM MEJ. MUIR IHM. (1980). Biosynthesis of collagen and other matrix proteins by articular cartilage in experimental osteoarthritis. *Biochem. J.* 188 (3), 823-837.
- EYRE DR. WU JJ. (1987). Type XI or $1\alpha 2\alpha 3\alpha$ collagen. En *Structure and Functions of Collagen Types*. (Ed.: R. Mayne & RE. Burgeson), pp. 261-282. New York: Academic Press.
- EYRE DR. WU JJ. APONE S. (1987b). A growing family of collagens in articular cartilage. Identification of 5 genetically distinct types. *J. Rheumatol.* 14 (suppl.), 25-27.
- FARQUHAR MG. (1985). Progress in unravelling pathways of Golgi traffic. *Ann. Rev. Cell. Biol.* 1 (1), 447-488.
- FAWNS HT. LANDELLS JW. (1953). Histochemical studies in rheumatic conditions. I. Observations on the fine structure of the matrix of normal bone and cartilage. *Ann. Rheum. Dis.* 12, 105-113.
- FELL HB. GLAUERT AM. BARRAT MEJ. GREEN R. (1976). The pig synovium. I.

- The intact synovium in vivo and in organ culture. *J. Anat.* 122, 663-680.
- FELL HB. JUBB RW. (1977). The effect of synovial tissue on the breakdown of articular cartilage in organ culture. *Arthritis Rheum.* 20 (7), 1359-1371.
- FELSON DT. (1995). The epidemiology of osteoarthritis: prevalence and risk factors. En *Osteoarthritic disorders*. (Ed.: KE. Kuetner & VM Goldberg), pp. 13-24. Rosemont, Illinois: American Academy of Orthopaedic Surgeons.
- FESSLER JH. FESSLER LI. (1987). Type V collagen. En *Structure and function of collagen types*. (Ed.: R Mayne & RE. Burgeson), pp. 81-104. New York: Academic Press.
- FINSTERBUSH A. FRIEDMAN B. (1973). Early changes in immobilized rabbits knee joints: A light and electron microscopic study. *Clin. Orthop.* 92, 305-309.
- FINSTERBUSH A. FRIEDMAN B. (1975). Reversibility of joint changes produced by immobilization in rabbits. *Clin. Orthop. Rel. Res.* 111, 290-298.
- FITZGERALD LA. STEINER B. RALL SC. Jr. LO S-S. PHILLIPS DR. (1987). Protein sequence of endothelial glycoprotein IIIa derived from a cDNA clone. Identity with platelet glycoprotein IIIa and similarity to "integrin". *J. Biol. Chem.* 262 (9), 3936-3939.
- FLANNERY CR. LARK MW. SANDY JD. (1992). Identification of a stromelysin cleavage site within the interglobular domain of human aggrecan. Evidence for proteolysis at this site in vivo in human articular cartilage. *J. Biol. Chem.* 267, 1008-1014.
- FOLKMAN J. AUSPRUNK D. LANGER R. (1981). Connective tissue: small blood vessels and capillaries. En *Textbook of Rheumatology*. (Ed.: WN. Kelley, ED. Harris, S. Ruddy & CB. Sledge) cap. 15, pp. 210-220, Philadelphia, London, Toronto: W.B. Saunders.
- FRANKEL VH. BURSTEIN AH. BROOKS DB. (1971). Biomechanics of internal derangement of the knee. Pathomechanics as determined by analysis of the instant centers of motion. *J. Bone Joint Surg.* 53(A), 945-962.
- FREEMAN MAR. (1980). The pathogenesis of idiopathic ("primary") osteoarthritis: an hypothesis. En *The aetiopathogenesis of osteoarthritis*. (Ed.: G. Nuki), pp. 90-92. Tunbridge Wells (England): Pitman Medical Publishing Co.
- FREEMAN MAR. KEMPSON GE. (1974). Load cartilage. En *Adult Cartilage* (Ed.: MAR. Freeman), pp. 228-246. New York: Grune & Stratton.
- FREEMAN MAR. MEACHIM G. (1979). Ageing and degeneration. En *Adult Articular Cartilage* (Ed.: MAR Freeman), pp. 487-543. Tunbridge Wells: Pitman Medical Publishing Co.
- FREEMAN MAR. WYKE B. (1967). The innervation of the knee joint: an anatomical and histological study in the cat. *J. Anat.* 101 (3), 505-532.
- FRIES JF. SINGH G. MORFELD D. HUBERT HB. LANE NE. BROWN BW. (1994). Running and the development of disability with age. *Ann. Intern. Med.* 121, 502-509.
- FRONT P. APRILE F. MITROVIC DR. SWAN DA. (1989). Age-related changes in the synthesis of matrix macromolecu-

- les by bovine articular cartilage. *Connect. Tissue Res.* 19, 121-133.
- FUNDERBURG FM. MARKWALD RR. (1986). Conditioning of native substrates by chondroitin sulfate proteoglycans during cardiac mesenchymal cell migration. *J. Cell Biol.* 103, 2475-2487.
- GARBISA S. BALLIN M. DAGA-GORDINI D. FASTELLI G. NATURALE M. NEGRO A. SEMENZATO G. LIOTTA LA. (1986). Transient expression of type IV collagenolytic metalloproteinase by human mononuclear phagocytes. *J. Biol. Chem.* 261 (5), 2369-2375.
- GARDNER DL. (1972). The influence of microscopic technology on knowledge of cartilage surface structure. *Ann. Rheum. Dis.* 31, 235-258.
- GARDNER DL. (1978). Diseases of connective tissue: a consensus. *J. Clin. Pathol.* 31, Suppl. (Royal College of Pathologists) 12, 223-238.
- GARDNER DL. (1980). General pathology of the peripheral joints. En *The joints and synovial fluids, vol. II.* (Ed.: L. Sokoloff), pp. 315-425. New York and London: Academic Press Inc. Ltd.
- GARDNER DL. (1983). The nature and causes of osteoarthritis. *Br. Med. J.* 286, 418-424.
- GARDNER DL. O'CONNOR P. OATES K. (1981). Low temperature scanning electron microscopy of dog and guinea-pig hyaline articular cartilage. *J. Anat.* 132 (2), 267-282.
- GARRONE R. (1986). Aspects ultrastructuraux des collagènes. *Ann. Biol. Clin.* 44, 162-167.
- GERSTENFELD LC. LANDIS WJ. (1991). Gene expression and extracellular matrix ultrastructure of a mineralizing chondrocyte cell culture system. *J. Cell Biol.* 112, 501-513.
- GHADIALLY FN. (1978). Fine structure of joints. En *The Joints and Synovial Fluid.* (Ed.: L. Sokoloff), pp. 132-150. New York: Academic Press.
- GHADIALLY FN. (1981). Inflammatory and degenerative disorders of joints. En *Electron Microscopy in Human Medicine., vol. 4: Soft Tissues, Bones and Joints, part. I: The Bones and Joints.* (Ed.: J.V. Johannssen), pp. 3-53. New York: McGraw-Hill International Book Company.
- GHADIALLY FN. (1982). *Ultrastructural Pathology of the Cell and Matrix.* London: Butterworths.
- GHADIALLY FN. (1983). Articular cartilage. En *Fine structure of synovial joints.* (Ed.: FN. Ghadially), pp. 42-79. London: Butterworths.
- GHADIALLY FN. AILSBY RL. YONG NK. (1976a). Ultrastructure of the hemophilic synovial membrane and electron-probe X-ray analysis of haemosiderin. *J. Pathol.* 120 (4), 201-208.
- GHADIALLY FN. GHADIALLY JA. ORYSCHAK AF. YONG NK. (1976b). Experimental productions of ridges on rabbit articular cartilage; a scanning electron microscopy study. *J. Anat.* 121, 119-132.
- GHADIALLY FN. GHADIALLY JA. ORYSCHAK AF. YONG NK. (1977a). The surface of dog articular cartilage: a scanning electron microscope study. *J. Anat.* 123, 527-536.

- GHADIALLY FN. JACKSON P. JUNOR J. (1981). A normogram for electron microscopists. *J. Submicrosc. Cytol.* 13, 95-96.
- GHADIALLY FN. MOSHURCHAK EM. GHADIALLY JA. (1978). A maturation change in the surface of cat articular cartilage detected by the scanning electron microscope. *J. Anat.* 125, 349-360.
- GHADIALLY FN. MOSHURCHAK EM. THOMAS I. (1977b). Humps on young human and rabbit cartilage. *J. Anat.* 124, 425-435.
- GHADIALLY FN. ROY S. (1966). Ultrastructure of rabbit synovial membrane. *Ann. Rheum. Dis.* 25, 318-326.
- GHADIALLY FN. ROY S. (1969). *Ultrastructure of Synovial Joints in Health and Disease*. London: Butterworth.
- GHADIALLY FN. YONG NK. LALONDE JMA. (1982). A transmission electron microscopic comparison of the articular surface of cartilage processed attached to bone and detached from bone. *J. Anat.* 135 (4), 685-706.
- GIBSON GJ. KIELLY CM. GARNER C. SCHOR SL. GRANT ME. (1983). Identification and partial characterisation of three low molecular weight collagenous polypeptides synthesised by chondrocytes cultured within collagen gels in the absence and in the presence of fibronectin. *Biochem. J.* 211, 417-420.
- GIBSON G. SCHOR SL. GRANT ME. (1982). Effect of matrix molecules on chondrocyte gene expression: Synthesis of a low molecular weight collagen species by cells cultured within collagen gels. *J. Cell Biol.* 93, 767-774.
- GILMAN SC. CHANG J. (1990). Characterization of interleukin 1 induced rabbit chondrocyte phospholipase A2. *J. Rheumatol.* 17 (10), 1392-1396.
- GILMORE R.SIC. PALFREY AJ. (1987). A histological study of human femoral condylar articular cartilage. *J. Anat.* 155, 77-85.2
- GILMORE R.SIC. PALFREY AJ. (1988). Chondrocyte distribution in the articular cartilage of human femoral condyles. *J. Anat.* 157, 23-31.
- GIRÁLDEZ GARCÍA MA. (1994). Lesiones osteocondrales experimentales del cartilago articular: influencia de su localización topográfico-funcional. Tesis doctoral. Universidad de Santiago de Compostela.
- GLANT TT. HADHAZY Cs. MIKECZ K. SIPOSA. (1985). Appearance and persistence of fibronectin in cartilage. *Histochemistry* 82, 149-158.
- GLEN-BOTT AM. (1972). Ultrastructure of synovial cells in vitro. *Ann. Rheum. Dis.* 31, 207-214.
- GOOD SC. (1971). A study of the effects of experimental immobilization on rabbit articular cartilage. *J. Anat.* 108, 497-507.
- GOETINCK PF. (1982). Proteoglycans in developing embryonic cartilage. En *The Glycoconjugates*, vol. 3. (Ed.: M.I. Horowitz), pp. 197-229. New York: Academic Press.
- GOETINCK PF. STIRPE NS. TSONIS PA. CARLONE D. (1987) The tandemly repeated sequences of cartilage link protein contain the sites for interaction with the hyaluronic acid. *J. Cell Biol.* 105, 2403-2408.
-

- GOLDBERG VM. NORBY DP. SACHS BL. MOSKOWITZ RW. MALEMUD CJ. (1984). Correlation of histopathology and sulphated proteoglycans in human osteoarthritic hip cartilage. *J. Orthop. Res. 1*, 34-39.
- GONGADZE LR. (1987). [Basophilic line of the articular cartilage in normal and various pathological states]. *Arkh. Anat. Gistol. Embriol. 92 (4)*, 52-57.
- GOSPODAROWICZ D. FERRARA N. SCHWELGERER L. NEUFELD G. (1987). Structural characterization and biological functions of fibroblast growth factor. *Endocr. Rev. 8*, 95-114.
- GRAABACK PM. (1982). Ultrastructural evidence for two distinct types of synoviocytes in rat synovial membrane. *J. Ultrastruct. Res. 78*, 321-339.
- GRAABACK PM. (1984). Characteristics of the two types of synoviocytes in rat synovial membrane. An ultrastructural study. *Lab. Invest. 50*, 690-702.
- GREEN WT. MARTIN GN. EANES ED. SOKOLOFF L. (1970). Microradiographic study of the calcified layer of articular cartilage. *Arch Pathol 90*, 151-158.
- GREENWALD RA. MOY WW. (1980). Effect of oxygen-derived free radicals on hyaluronic acid. *Arthritis Rheum. 23 (4)*, 455-463.
- GREENWALD RA. MOY WW. SEIBOLD J. (1978). Functional properties of cartilage proteoglycans. *Semin. Arthritis Rheum. 8*, 53-57.
- GREILING H. KLEESIEK K. REINARDS R. (1986). Interaction of synovial cells and synovial fluid with cartilage. En *Articular Cartilage Biochemistry*. (Ed.: K.E. Kuettner, R. Schleyerbach & V.C. Hascall), pp. 195-209. New York: Raven Press.
- GREILING H. KLEESIEK K. REINARDS R. (1987). [Pathobiochemistry of joint destruction in inflammatory and degenerative joint diseases]. *Z. Gesamte Inn. Med. 42 (15)*, 415-419.
- GRINNEL F. (1984). Fibronectin and wound healing. *J. Cell. Biochem. 26*, 107-116.
- GRITZKA TL. FRY LR. CHEESMAN RL. LaVIGNE A. (1973). Deterioration of articular cartilage caused by continuous compression in a moving rabbit joint. *J. Bone Joint Surg. 55-A*, 1698-1704.
- GRODZINSKY AJ. ROTH V. HYERS ER. GROSSMAN W. MOW VC. (1981). The significance of electromechanical and osmotic forces in the non-equilibrium swelling behaviour of articular cartilage in tension. *J. Biomed. Eng. 103*, 221-231.
- GRONDBLAD M. KONNTINEN YT. KOR-KALA O. LIESI P. HUKKANEN M. POLAK J. (1988). Neuropeptides in the synovium of patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *J. Rheumatol. 15*, 1807-1810.
- GUERNE PA. TERKELTAUB RA. ZURAW B. LOTZ M. (1989). Inflammatory microcrystals stimulate interleukin 6 production and secretion by human monocytes and synoviocytes. *Arthritis Rheum. 32 (11)*, 1443-1452.
- GUZMAN NA. GRAVES PN. PROCKOP DJ. (1978). Addition of mannose to both the amino- and carboxy-terminal propeptides of Type II procollagen occurs without formation of a triple helix. *Biochem. Biophys. Res. Commun 84*, 691-698.
- HABUCHI H. CONRAD HE. GLASER JH. (1985). Coordinate regulation of collagen

- and alkaline phosphatase levels in chick embryo chondrocytes. *J. Biol. Chem.* 260, 13029-13034.
- HALATA Z. GROTH H. (1976). Innervation of the synovial membrane of the cat knee joint capsule. *Cell Tiss. Res.* 169, 415-418.
- HALL BK. (1970). Cellular differentiation in skeletal tissues. *Biol. Rev.* 45, 455-484.
- HALL MC. (1963). Cartilage changes after experimental immobilization of the knee joint of the young rat. *J. Bone Joint Surg.* 45-A, 36-44.
- HALL MC. (1969). Cartilage changes after experimental relief of contact in the knee joint of the mature rat. *Clin. Orthop. Rel. Res.* 64, 64-76.
- HALLIWELL B. GUTTERIDGE JMC. (1986). Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. *Arch. Biochem. Biophys.* 246, 501-514.
- HAMERMAN D. BARLAND P. (1966). Structure and function of the synovial membrane. *Bull. Rheum. Dis.* 16, 396-399.
- HAMERMAN D. KLAGSBRUN M. (1985). Osteoarthritis. Emerging evidence for cell interactions in the breakdown and remodeling of cartilage. *Am. J. Med.* 78 (3), 495-499.
- HAMERMAN D. SMITH C. KEISER HD. (1982). Glycosaminoglycans produced by human synovial cell cultures. *Coll. Rel. Res.* 2, 313-329.
- HANDLEY CHJ. McQUILLAN DS. CAMPBELL MA. BOLIS S. (1986). Steady-State metabolism in cartilage explants. In *Articular Cartilage Biochemistry*. (Ed.: K.E. Kuettner, R. Schleyerbach & V.C. Hascall), pp. 163-175. New York: Raven Press.
- HARDINGHAM TE. (1979). The role of link-protein in the structure of cartilage proteoglycan aggregates. *Biochem. J.* 177, 237-247.
- HARDINGHAM TE. (1986). Structure and biosynthesis of proteoglycans. *Rheumatology* 10, 143-183.
- HARDINGHAM TE. EWINS RJF. MUIR IHM. (1976). Structure and heterogeneity of the protein core and the effects of specific protein modifications on the binding to hyaluronate. *Biochem. J.* 157, 127-143.
- HARDINGHAM TE. MUIR IHM. (1972). The specific interaction of hyaluronic acid with cartilage proteoglycans. *Biochem. Biophys. Acta* 279, 401-405.
- HARDINGHAM TE. MUIR H. (1974). Hyaluronic acid in cartilage and proteoglycan aggregation. *Biochem. J.* 139, 565-581.
- HARDINGHAM TE. MUIR IHM. KWAN MK. LAI WH. MOW VC. (1987). Viscoelastic properties of proteoglycan solutions with varying proportions present as aggregates. *J. Orthop. Res.* 5, 36-46.
- HARDINGHAM TE. PERKINS SJ. MUIR IHM. (1983). Molecular conformations in proteoglycan aggregation. *Biochem. Soc. Trans.* 11, 128-130.
- HARRIS ED Jr. FAULKNER CS II BROWN FE. (1975). Collagenolytic system in rheumatoid arthritis. *Clin. Orthop.* 110, 303-316.

- HARRIS ED.Jr. McCROSKERY PA. (1974). The influence of temperature and fibril stability on degradation of cartilage collagen by rheumatoid synovial collagenase. *N. Eng. J. Med.* 290 (1), 1-6.
- HARWOOD R. BHALLA AK. GRANT ME. JACKSON DS. (1975). The synthesis and secretion of cartilage procollagen. *Biochem. J.* 148, 129-138.
- HARWOOD R. MERRY AH. WOOLLEY DE. GRANT ME. JACKSON DS. (1977). The disulfide-bonded nature of procollagen and the role of the extension peptides in the assembly of the molecule. *Biochem. J.* 161, 405-418.
- HASCAL GK. (1970). Cartilage proteoglycans: comparison of sectioned and spread whole molecules. *J. Ultrastruct. Res.* 70, 369-375.
- HASCALL VC. HANDLEY CJ. McQUILLAN DJ. HASCALL GK. ROBINSON HC. LOWTHER DA. (1983). Effect of serum on biosynthesis of proteoglycans by bovine articular cartilage in culture. *Arch. Biochem. Biophys.* 224, 206-223.
- HASCALL VC. HEINEGÅRD D. (1974). Aggregation of cartilage proteoglycans. I. The role of hyaluronic acid. *J. Biol. Chem.* 249, 4232-4241.
- HASCALL VC. KIMURA JH. (1982). Proteoglycans: Isolation and characterization. *Methods Enzymol.* 82A, 769-800.
- HASCALL VC. RIOLO RL. (1972). Characteristics of the protein-keratan sulphate core and of keratan sulphate prepared from bovine nasal cartilage proteoglycan. *J. Biol. Chem.* 247, 4529-4538.
- HASCALL VC. SAJDERA SW. (1970). Physical properties and polydispersity of proteoglycans from bovine nasal cartilage. *J. Biol. Chem.* 245, 4920-4930.
- HASKELL WL. (1988). Exercise and health. En *Cecil textbook of internal medicine*. (Ed.: JB. Wyngarden & LH. Smith), pp. 45-48. Philadelphia: WB Saunders.
- HASTY KA. REIFE RA. KANG AH. STUART JM. (1990). The role of stromelysin in the cartilage destruction that accompanies inflammatory arthritis. *Arthritis Rheum.* 33 (3), 388-397.
- HAUT RC. (1989). Contact pressures in the patellofemoral joint during impact loading on the human flexed knee. *J. Orthop. Res.* 7, 272-280.
- HAY E. (1982). *Cell biology of extracellular matrix*. New York: Plenum Press.
- HEINEGÅRD D. AXELSSON I. (1977). Distribution of keratan sulphate in cartilage proteoglycans. *J. Biol. Chem.* 252, 1971-1979.
- HEINEGÅRD D. FRANZEN A. HEDBON E. SOMMARIN Y. (1986). Common structures of the core proteins of interstitial proteoglycans. En *Functions of the Proteoglycans*. (Ed.: D. Evered & J. Whelan), pp. 69-88. New York: Wiley (Ciba Fond. Symp. 124).
- HEINEGÅRD D. HASCALL VC. (1974a). Characterization of chondroitin sulfate isolated from trypsin chymotrypsin digests of cartilage proteoglycans. *Arch. Biochem. Biophys.* 165, 427-441.
- HEINEGÅRD D. HASCALL VC. (1974b). Aggregation of cartilage proteoglycans. III. Characteristics of the proteins isolated from trypsin digests of aggregate. *J. Biol. Chem.* 249, 4250-4256.

- HEINEGÅRD D. INEROT S. WIESLANDER J. LINDBLAD G. (1985). A method for the quantification of cartilage proteoglycan structures liberated to the synovial fluid during degenerative joint disease. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 45, 421-427.
- HEINEGÅRD D. PAULSSON M. (1984). Structure and metabolism of proteoglycans. En *Extracellular Matrix Biochemistry*. (Ed.: K.A. Piez & A.H. Reddi), pp. 277-328. Amsterdam: Elsevier.
- HELIOVAARA M. MAKELA M. IMPIVAARA O. KNEKT P. AROMA A. SIEVERS K. (1993). Association of overweight, trauma and workload with coxarthrosis: a health survey of 7.217 persons. *Acta Orthop. Scand.* 64, 513-518.
- HELMINEN HJ. JURVELIN J. KUUSELA T. HEIKKILA R. KIVIRANTE I. TAMMI M. (1983). Effects of immobilization for 6 weeks on rabbit knee articular surfaces as assessed by the semiquantitative stereomicroscopic method. *Acta Anat.* 115, 327-335.
- HELMINEN HJ. KIVIRANTA I. JURVELIN J. SÄÄMÄNEN A-M. PARKKINEN J. LAPVETELÄINEN T. (1986). Effect of motion and load on articular cartilage in animal models. En *Articular cartilage and osteoarthritis* (Ed.: KE. Kuettner, R. Schelyerbach, JG. Peyron & VC. Hascall), pp. 501-510. Nueva York: Raven Press.
- HELMINEN HJ. PAUKKONEN K. KIVIRANTA I. JURVELIN J. SÄÄMÄNEN A-M. PARKKINEN J. LAPVETELÄINEN T. (1986). Decrease of chondrocyte volume and volume density but increase of their number in the canine articular cartilage after strenuous training programme. *Scand. J. Rheumatol.* 60 (Suppl.), 114.
- HENDERSON B. (1981). The biochemistry of the human synovial lining with special reference to alterations in metabolism in rheumatoid arthritis. *Pat. Res. Pract.* 172, 1-24.
- HENRY I. BERNHEIM A. BERNARD M. van der REST M. KIMURA T. JEAMPIERRE C. BARICHARD F. BERGER R. OLSEN BR. RAMÍREZ F. (1988). Mapping of a human fibrillar collagen gene, pro $\alpha 1(\text{IX})$ (COL11A1), to the p21 region of chromosome 1. *Genomics* 3 (1), 87-90.
- HERBAGE D. BOUILLET J. BERNENGO JC. (1977). Biochemical and physicochemical characterization of pepsin-solubilized type II collagen from bovine articular cartilage. *Biochem. J.* 161, 303-312.
- HESSLE H. ENGVALL E. (1984). Type VI collagen. Studies on its localization, structure and biosynthetic form with monoclonal antibodies. *J. Biol. Chem.* 259, 3955-3961.
- HEWITT AT. KLEINMAN HK. PENNYPACKER JP. MARTIN GR. (1980). Identification of an adhesion factor for chondrocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77, 385-388.
- HEWITT AT. VARNER HH. SILVER MH. DESSAU W. WILKES CM. MARTIN GR. (1982). The isolation and partial characterization of chondronectin, an attachment factor for chondrocytes. *J. Biol. Chem.* 257, 2330-2334.
- HIBBS MS. HASTY KA. SEYER JM. KANG AH. MAINARDI CL. (1985). Biochemical and immunological characterization of the secreted forms of human neutrophil gelatinase. *J. Biol. Chem.* 260 (4), 2493-2500.

- HIROHATA K. KOBAYASHI I. (1964). Fine structure of the synovial tissue in rheumatoid arthritis. *Kobe J. Med. Sci.* 10, 195-200.
- HIRSCH C. (1944). A contribution to the pathogenesis of chondromalacia of the patella. *Acta Chir. Scand. (supl)* 83, 1-106.
- HJERTQUIST SO. LEMPERG R. (1972). Identification and concentration of the glycosaminoglycans of human articular cartilage in relation to age and osteoarthritis. *Calcif. Tissue Res.* 10, 223-237.
- HOLMDAHL DE. INGELMARK BE. (1948). Der Bau des Gelenknorpels unter verschiedenen funktionellen Verhältnissen. *Acta Anat. (Basel)* 6, 309-375.
- HOLLANDER JL. HORVATH SM. (1949). The influence of physical therapy procedures on the intra-articular temperature of normal and arthritic subjects. *Am. J. Med. Sci.* 218, 543-550.
- HOMANDBERG GA. ERICKSON JW. (1986). Model of fibronectin tertiary structure based on studies of interactions between fragments. *Biochemistry* 25 (22), 6917-6925.
- HORIYEK. (1924). Über die menschliche synovia. *Virch. Arch. Pathol. Anat.* 251, 649-655.
- HORN VJ. VARNER H. DORMSKY J. MARTIN G. KLEINMAN H. (1986). Monoclonal antibody to human chondronectin. UCLA Symposium on diseases of cartilage and bone matrix. *J. Cell Biochem. (supl)*, 10b.
- HORVATH SM. HOLLANDER JL. (1949). Intra-articular temperature as a measure of joint reaction. *J. Clin. Invest.* 28, 469-475.
- HORWITZ A. DUGGAN K. BUCK C. BECKERLE MC. BURRIDGE K. (1986). Interaction of plasma membrane fibronectin receptor with talin - a transmembrane linkage. *Nature* 320 (6062), 531-533.
- HOSHINO A. WALLACE WA. (1987). Impact absorbing properties of the human knee. *J. Bone Joint Surg.* 69-B (5), 807-811.
- HOSTIKKA SL. EDDY RL. BYERS MG. HÖYHTYÄ M. SHOWS TB. TRYGGVASON K. (1990). Identification of a distinct type IV collagen alpha chain with restricted kidney distribution and assignment of its gene to the locus of X chromosome-linked Alport syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87 (4), 1606-1610.
- HOUGH AJ. BANFIELD WG. MOTTRAM FC. SOKOLOFF L. (1974). The osteochondral junction of mammalian joints. An structural and microanalytic study. *Lab invest* 31, 685-695.
- HOWELL DS. (1975). Degradative enzymes in osteoarthritic human articular cartilage. *Arthritis Rheum.* 18, 167-177.
- HOYLAND JA. THOMAS J. DONN R. MARRIOT A. AYAD S. BOOT-HANDFORD RP. GRANT ME. FREEMONT AJ. (1991). Distribution of type X collagen mRNA in normal and osteoarthritic human cartilage. *Bone Mineral* 15, 151-164.
- HOZSA L. JARVINEN M. KANNUS P. REFFY A. (1987). Fine structural changes in the articular cartilage of the rats knee following short-term immobilization in various positions: a scanning electron microscopic study. *Int. Orthop.* 11, 129-133.
- HUBER S. van der REST M. BRUCKNER P. RODRÍGUEZ E. WINTERHALTER

- KH. VAUGHAN L. (1986). Identification of the type IX collagen polypeptide chains. The $\alpha 2(\text{IX})$ polypeptide carries the chondroitin sulfate chain(s). *J. Biol. Chem.* 261 (13), 5965-5968.
- HUGHES CE. CATERSON B. WHITE RJ. ROUGHLEY PJ. MORT JS. (1992). Monoclonal antibodies recognizing protease-generated neoepitopes from cartilage proteoglycan degradation. Application to studies of human link protein cleavage by stromelysin. *J. Biol. Chem.* 266 (24), 7671-7679.
- HULTH A. LINDBERD L. TELHAG H. (1970). Experimental osteoarthritis in rabbits. *Acta Orthop. Scand.* 41, 522-531.
- HULTH A. LINDBERG L. TELHAG H. (1972). Mitosis in human osteoarthritic cartilage. *Clin. Orthop.* 84, 197-199.
- HUMPHRIES MJ. AKIYAMA SK. KOMORIYA A. OLDEN K. YAMADA KM. (1986). Identification of an alternatively spliced site in human plasma fibronectin that mediates cell type-specific adhesion. *J. Cell Biol.* 103 (6 Pt 2), 2637-2647.
- HUMPHRIES MJ. KOMORIYA A. AKIYAMA SK. OLDEN K. YAMADA KM. (1987). Identification of two distinct regions of the type III connecting segment of human plasma fibronectin that promote cell type-specific adhesion. *J. Biol. Chem.* 262 (14), 6886-6892.
- HUNTER W. (1743). On the structure and diseases of articulating cartilages. *Phil. Trans. Roy. Soc.* 42-B, 514-521.
- HYNES RO. (1973). Alteration of cell-surface proteins by viral transformation and by proteolysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 70, 3170-3174.
- HYNES RO. (1976). Cell surface proteins and malignant transformation. *Biochim. Biophys. Acta* 458 (1), 73-107.
- HYNES, RO. (1981). Structural relationships between fibronectin and cytoplasmic cytoskeletal networks. En *Cytoskeletal Elements and Plasma Membrane Organization*. (Ed.: G. Poste & G.L. Nicolson), Vol. 7, pp. 100-137. Amsterdam: Elsevier.
- HYNES RO. (1985). Molecular biology of fibronectin. *Annu. Rev. Cell. Biol.* 1, 67-90.
- HYNES RO. (1987). Integrins: a family of cell surface receptors. *Cell* 48, 549-554.
- HYNES RO. SCHWARZBAUER JE. TAMKUN JW. (1987). Isolation and analysis of cDNA and genomic clones of fibronectin and its receptor. *Methods Enzymol.* 144, 447-463.
- IGNOTZ RA. MASSAGUE J. (1986). Transforming growth factor-beta stimulates the expression of fibronectin and collagen and their incorporation into the extracellular matrix. *J. Biol. Chem.* 261 (9), 4337-4345.
- IGNOTZ RA. MASSAGUE J. (1987). Cell adhesion protein receptors as targets for transforming growth factor-beta action. *Cell* 51, 189-197.
- IRWIN MH. MAYNE R. (1986). Use of monoclonal antibodies to locate the chondroitin sulfate chain(s) in type IX collagen. *J. Biol. Chem.* 261 (35), 16281-16283.
- IRWIN MH. SILVERS SH. MAINE R. (1985). Monoclonal antibody against chicken type IX collagen: preparation, characterization and recognition on the intact form
-

- of type IX collagen secreted by chondrocytes. *J. Cell Biol.* 101, 814-823.
- ISHIHARA M. FEDARCO NS. CONRAD HE. (1987). Involvement of phosphatidyl-inositol and insulin in the coordinate regulation of proteoglycan sulfate metabolism and hepatocyte growth. *J. Cell. Chem.* 262, 4708-4716.
- JACKSON JC. (1968). Degenerative changes in the knee after meniscectomy. *Br. Med. J.* 2, 524.
- JANDER R. RAUTERBERG J. GLANVILLE RU. (1983). Further characterization of the three polypeptide chain of bovine and human short-chain collagen (intima collagen). *Eur. J. Biochem.* 133, 39-46.
- JANDER R. TROYER D. RAUTERBERG J. (1984). A collagen-like glycoprotein of the extracellular matrix is the undergraded form of type VI collagen. *Biochemistry* 23, 3675-3681.
- JANIS R. SANDSON J. SMITH C. HAMERMAN D. (1967). Synovial cell synthesis of a substance immunologically like cartilage protein polysaccharide. *Science* 158, 1464-1467.
- JAYSON MIV. DIXON ASJ. (1970a). Intraarticular pressure in rheumatoid arthritis of the knee. II. Effect of intra-articular pressure on blood circulation to the synovium. *Ann. Rheum. Dis.* 29 (3), 266-268.
- JAYSON MIV. DIXON ASJ. (1970b). Intra-articular pressure in rheumatoid arthritis of the knee. III. Pressure changes during joint use. *Ann. Rheum. Dis.* 29 (4), 401-408.
- JAYSON MIV. DIXON A.SJ. (1970c). Valvular mechanisms in juxta-articular cysts. *Ann. Rheum. Dis.* 29 (4), 415-420.
- JAYSON MIV. RUBENSTEIN D. DIXON ASJ. (1970). Intra-articular pressure and rheumatoid geodes (bone "cysts"). *Ann. Rheum. Dis.* 29 (5), 496-502.
- JILANI M. GHADIALLY FN. (1986). An ultrastructural study of age-associated changes in the rabbit synovial membrane. *J. Anat.* 146, 201-215.
- JOHNSON RJ. ERIKSSON E. HAGGMARK T. POPE MH. (1984). Five to ten year follow-up evaluation after reconstruction of anterior cruciate ligaments. *Clin. Orthop.* 183, 123-137.
- JONES IL. LARSSON SE. LEMPERG R. (1977). The glycosaminoglycans of human articular cartilage: concentration and distribution in different layers in the adult individual. *Clin. Orthop.* 127, 257-264.
- JONES KL. BROWN M. ALI SY. BROWN RA. (1987). An immunohistochemical study of fibronectin in human osteoarthritic and disease free articular cartilage. *Ann. Rheum. Dis.* 46, 809-815.
- JURVELIN J. HELMINEN HJ. LAURITSA-LO S. KIVIRANTA I. SÄÄMÄNEN AM. PAUKKONEN K. TAMMI M. (1985). Influences of joint immobilization and running exercise on articular surfaces of young rabbits. A semiquantitative stereomicroscopic and scanning electron microscopic. *Acta Anat.* 122, 62-68.
- JURVELIN J. KIVIRANTA I. SÄÄMÄNEN AM. HELMINEN HJ. (1986c). Biomechanical properties of articular cartilage alter differently after non-strenuous and strenuous physical exercise. *Scand. J. Rheumatol.* 60 (Suppl.), 122.
- JURVELIN J. KIVIRANTA I. SÄÄMÄNEN AM. TAMMI M. HELMINEN HJ. (1989). Partial restoration of immobilization-induced softening of canine articular cartilage after remobilization of

- the knee (stifle) joint. *J. Orthop. Res.* 7, 352-358.
- JURVELIN J. KIVIRANTA I. SÄÄMÄMEN AM. TAMMI M. HELMINEN HJ. (1990). Indentation stiffness of young canine knee articular cartilage: influence of strenuous joint loading. *Journal Biomech.* 23, 1239-1246.
- JURVELIN J. KIVIRANTA I. TAMMI M. HELMINEN HJ. (1986a). Effect of physical exercise on indentation stiffness of articular cartilage in the canine knee. *Int. J. Sports Med.* 7, 106-110.
- JURVELIN J. KIVIRANTA I. TAMMI M. HELMINEN HJ. (1986b). Softening of canine articular cartilage after immobilization of the knee joint. *Clin. Orthop.* 207, 246-252.
- JURVELIN J. KUUSELA T. HEIKKILÄ R. PELTTARIA. KIVIRANTA I. TAMMI M. HELMINEN HJ. (1983). Investigation of articular cartilage surface morphology with a semiquantitative scanning electron microscopic method. *Acta Anat.* 116, 3023-3031.
- KARBOWSKI A. MATTHIASS HH. (1990). Prostaglandine im Knochen- und Knorpelmetabolismus. *Z. Orthop.* 128 (2), 115-122.
- KATZ EP. WACHTEL EJ. MAROUDAS A. (1986). Extrafibrillar proteoglycans osmotically regulate the molecular packing of collagen in cartilage. *Biochim. Biophys. Acta* 882, 136-139.
- KEENE DR. ENGVALL E. GLANVILLE RW. (1988). The ultrastructure of type VI collagen in skin and cartilage suggests an anchoring function for this filamentous network. *J. Cell Biol.* 107 (5), 1995-2006.
- KEENE DR. SAKAI LY. BACHINGER HP. BURGESSON RE. (1987). Type III collagen can be present on banded collagen fibrils regardless of fibril diameter. *J. Cell Biol.* 105, 2393-2402.
- KEMPPINEN, T. KIVIRANTA I. TAMMI M. HELMINEN HJ. (1986). Both heavy loading and immobilization of the joint decrease proteoglycan concentration in the articular cartilage of young adult guinea pigs. *Scand. J. Rheumatol.* 60 (Suppl.), 124.
- KEMPSON GE. (1982). Relationship between the tensile properties of articular cartilage from the human knee and age. *Ann. Rheum. Dis.* 41, 508-511-
- KEMPSON GE (1991). Age-related changes in the tensile properties of human articular cartilage: a comparative study between the femoral head of the hip joint and the talus of the ankle joint. *Biochim. Biophys. Acta.* 1075, 223-230.
- KEMPSON GE. MUIR IHM. SWANSON SAV. FREEMAN MAR. (1970). Correlations between stiffness and the chemical constituents of cartilage on the human femoral head. *Biochim. Biophys. Acta* 215, 70-77.
- KENNEDY JL. ALEXANDER IJ. HAYES KL. (1982). Nerve supply of the human knee and its functional importance. *Am. J. Sports Med.* 10, 329-335.
- KIMURA JH. THONAR EM-J. HASCALL VC. REINER A. POOLE AR. (1981). Identification of core protein, an intermediate in proteoglycan biosynthesis in cultured chondrocytes from the Swarm rat chondrosarcoma. *J. Biol. Chem.* 256, 7890-7897.
-

- KIMURA T. CHEAH KS. CHAN SD. LUI VC. MATTEI MG. van der REST M. ONO K. SOLOMON E. NINOMIYA Y. OLSEN BR. (1989a). The human $\alpha 2(XI)$ collagen (COL11A2) chain. Molecular cloning of cDNA and genomic DNA reveals characteristics of a fibrillar collagen with differences in genomic organization. *J. Biol. Chem.* 264 (23), 13910-13916.
- KIMURA T. MATTEI MG. STEVENS JW. GOLDRING MB. NINOMIYA Y. OLSEN BR. (1989b). Molecular cloning of rat and human type IX collagen cDNA and localization of the $\alpha 1(IX)$ gene on the human chromosome 6. *Eur. J. Biochem.* 179 (1), 71-78.
- KINCAID SA. Van SICKLE DC. (1981). Regional histochemical and thickness variations of adult canine articular cartilage. *Am. J. Vet. Res.* 42, 428-432.
- KINCAID SA. Van SICKLE DC. (1982). Effects of exercise on the histochemical changes of articular chondrocytes in adult dogs. *Am. J. Vet. Res.* 43, 1218-1226.
- KINSELLA MG. WIGHT TN. (1986). Modulation of sulfated proteoglycan synthesis by bovine aortic endothelial cells during migration. *J. Cell Biol.* 102, 679-687.
- KIRSCH T. von der MARK K. (1992). Remodelling of collagen types I, II and X and calcification of human fetal cartilage. *Bone Mineral.* 18, 107-117.
- KIRSCHKE H. KEMBHAVI AA. BOHLEY P. BARRETT AJ. (1982). Action of rat liver cathepsin L on collagen and other substrates. *Biochem. J.* 201 (2), 367-372.
- KIVIRANTA I. JURVELIN J. TAMMI M. SÄÄMÄNEN AM. HELMINEN HJ. (1985). Microspectrophotometric quantitation of glycosaminoglycans in articular cartilage sections stained with safranin O. *Histochemistry* 82, 249-255.
- KIVIRANTA I. JURVELIN J. TAMMI M. SÄÄMÄNEN AM. HELMINEN HJ. (1987). Weight bearing controls glycosaminoglycan concentration and articular cartilage thickness in the knee joints of young beagle dogs. *Arthritis Rheum.* 30 (7), 801-809.
- KIVIRANTA I. TAMMI M. JURVELIN J. AROKOSKI J. SÄÄMÄNEN AM. HELMINEN HJ. (1992). Articular cartilage thickness and glycosaminoglycan distribution in the canine knee joint after strenuous running exercise. *Clin. Orthop.* 283, 302-308.
- KIVIRANTA I. TAMMI M. JURVELIN J. SÄÄMÄNEN AM. HELMINEN HJ. (1984). Fixation, decalcification, and tissue processing effects on articular cartilage proteoglycans. *Histochemistry* 80, 569-573.
- KIVIRANTA I. TAMMI M. JURVELIN J. SÄÄMÄNEN AM. HELMINEN HJ. (1988). Moderate running exercise augments glycosaminoglycans and thickness of articular cartilage in the knee joint of young beagle dogs. *J. Orthop. Res.* 6 (2), 188-195.
- KLEIN-NULEND J. VELDHUIJZEN JP. van de STADT RJ. van KAMPEN GP. KULJNER R. BURGER EH. (1987). Influence of intermittent compressive force on proteoglycan content in calcifying growth plate cartilage in vitro. *J. Biol. Chem.* 262, 15490-15495.
- KLEINMAN HK. KLEBE RJ. MARTIN GR. (1981). Role of collagenous matrices in the adhesion and growth of cells. *J. Cell Biol.* 88, 473-485.
- KNIGHT AD. LEVICK JR. (1983). The density and distribution of capillaries around

- a synovial cavity. *Quarterly J. Exp. Physiol.* 68, 629-664.
- KNOX P. WELLS P. (1979). Cell adhesions and proteoglycans. I. The effects of exogenous proteoglycans on the attachment of chick embryo fibroblasts to tissue culture plastic and collagen. *J. Cell. Sci.* 40, 77-88.
- KOBAYASHI K. ITO T. HOSHINO T. (1985). Electron microscopic demonstration of acid-labile, 4D-staggered intermolecular association of collagen formed in vitro. *Collagen Relat. Res.* 5, 253-260.
- KODA JE. BERNFIELD M. (1984). Heparan sulfate proteoglycans from mouse mammary epithelial cells. *J. Biol. Chem.* 259, 11763-11770.
- KOHATSO ND. SCHURMAN DJ. (1990). Risk factors for the development of osteoarthritis of the knee. *Clin. Orthop.* 261, 242-246.
- KOLLER E. WINTERHALTER KH. TRUEB B. (1989). The globular domains of type VI collagen are related to the collagen-binding domains of cartilage matrix protein and von Willebrand factor. *EMBO J.* 8 (4), 1073-1077.
- KONOMI H. SEYER JM. NINOMIYA Y. OLSEN BR. (1986). Peptide-specific antibodies identify the $\alpha 2$ chain as the proteoglycan subunit of type IX collagen. *J. Biol. Chem.* 261 (15), 6742-6746.
- KOUKOULIS GK. GOULD VE. BHATTACHARYYA A. GOULD JE. HOWEEDY A. VIRTANEN I. (1991). Tenascin in normal reactive and neoplastic tissues. *Hum. Pathol.* 22, 636-642.
- KRANE SM. AMEMTO EP. (1980). Cellular interactions and control of collagenase secretion in the synovium. *J. Rheumatol.* 10 (suppl. 11), 7-12.
- KRAUSE WD. (1969). Microscopische Untersuchungen am Gelenkknorpel extrem funktionell belasteter Mäuse. Thesis, Köln.
- KREY PR. COHEN AS. (1973). Fine structural analysis of rabbit synovial cells. I. The normal synovium and changes in organ culture. *Arthritis Rheum.* 16, 324-340.
- KREY PR. COHEN AS. SMITH CB. FINLAND M. (1971). The human fetal synovium: histology, fine structure and changes in organ culture. *Arthritis Rheum.* 14, 319-341.
- KRUSIUS T. GEHLSSEN KR. RUOSLAHTI E. (1987). A fibroblast chondroitin sulfate proteoglycan core protein contains lectin-like and growth factor-like sequences. *J. Biol. Chem.* 262, 13120-13125.
- KÜHN K. (1984). Structural and functional domains of collagen: a comparison of the protein with its gene. *Collagen Res.* 4 (4), 309-322.
- KÜHN K. (1987). The classical collagens: types I, II, III. En *Structure and Function of Collagen Types*. (Ed.: R. Mayne & RE. Burgeson), pp. 1-42. New York: Academic Press.
- KÜHN K. von der MARK K. (1978). The influence of proteoglycans on the macromolecular structure of collagen. En *Collagen Platelet Interaction*. (Ed.: H. Gaspar), pp. 123-126. Stuttgart/New York: Schattauer.
- KUJALA UM. KAPRIO J. SARNA S. (1994). Steoarthritis of weight bearing joints of

- lower limbs in former elite male athletes. *Br. Med. J.* 308, 231-234.
- KUJALA UM. KETTUNEN J. PAANANEN H. AALTO T. BATTIE MC. IMPIVAARA O. (1995). Knee osteoarthritis in former runners, soccer players, weight lifters and shooters. *Arthritis Rheum.* 38(4), 539-546.
- KUNKEL SL. CHENSUE SW. PHAN SH. (1986). Prostaglandins as endogenous mediators of interleukin 1 production. *J. Immunol.*, 136, 186-192.
- KUO HJ. KEENE DR. GLANVILLE RW. (1989). Orientation of type VI collagen monomers in molecular aggregates. *Biochemistry* 28 (9), 3757-3762.
- KUSHNER I. SOMERVILLE JA. (1971). Permeability of human synovial membrane to plasma proteins. *Arthritis Rheum.* 14, 560-569.
- LABANDEIRA-GARCÍA JL. GUERRA-SEIJAS MJ. QUINTANS-RODRÍGUEZ M. JORGE BARREIRO FJ. (1990). The function of the lipids in cartilage. *Rev. Int. Rhumatol.* 96 (1), 35-40.
- LAMMI MJ. HÄKKINEN TP. PARKKINEN JJ. HYTTINEN MM. JORTIKKA M. HELMINEN HJ. TAMMI MI. (1993). Adaptation of canine femoral articular cartilage to long-distance running exercise in young beagles. *Ann. Rheum. Dis.* 52(5), 369-377.
- LANE JM. BRIGHTON CT. MENKOWITZ BJ. (1977). Anaerobic and aerobic metabolism in articular cartilage. *J. Rheumatol.* 4, 334-342.
- LANE LB. BULLOUGH PG. (1980). Age-related changes in the thickness of the calcified zone and the number of tide marks in adult human articular cartilage. *J. Bone Joint Surg.* 62-B (3), 372-375.
- LANE NE. BLOCH DA. JONES HH. MARS-HALL WH. WOOD PD. FRIES JF. (1986). Long distance running, bone density and osteoarthritis. *JAMA.* 255, 1147-1151.
- LANE NE. BLOCH DA. WOOD PD. FRIES JF. (1987). Aging, long-distance running and the development of musculoskeletal disability: a controlled study. *Am. J. Med.* 82, 772-780.
- LANE NE. BUCKWALTER JA. (1993). Exercise: a cause of osteoarthritis?. En *Rheumatic disease clinics of North America.* (Ed.: R. Moskowitz), pp. 617-633. Philadelphia: WB. Saunders
- LANE NE. MICHEL B. BJORKENGREN A. OEHLERT J. SHI H. BLOCH DA. (1993). The risk of osteoarthritis with running and aging: a five year longitudinal study. *J. Rheum.* 20 (3), 461-468.
- LANGENSKIÖLD A. MICHELSSON JE. VIDEMAN T. (1979). Osteoarthritis of the knee in rabbits produced by immobilization: Attempts to achieve a reproducible model for studies on pathogenesis and therapy. *Acta Orthop. Scand.* 50, 1-14.
- LANIER RR. (1946). The effects of exercise on the knee-joints of inbred mice. *Anat. Rec.* 94, 311-321.
- LAPIERE CM. NUGGENS B. PIERARD GE. (1977). Interaction between collagen type I and III in conditioning bundles organization. *Connet. Tissue Res.* 5, 21-29.
- LAVIETES BB. CARSONS S. DIAMOND HS. LASKIN RS. (1985). Synthesis, secretion, and deposition of fibronectin in cultured human synovium. *Arthritis Rheum.* 28 (9), 1016-1026.

- LEACH DH. CALDWELL SJ. FERGUSON JG. (1988). Ultrastructural study of synovial membrane from the antebrachio-carpal joint of calves. *Acta Anat.* 133 (33), 234-246.
- LEBOVITZ HE. EISENBARTH GS. (1975). Hormonal regulation of cartilage growth and metabolism. *Vitam. Horm.* 33, 575-648.
- LEDBETTER SR. FISHER LW. HASSELL JR. (1987). Domain structure of the basement membrane heparan sulfate proteoglycan. *Biochemistry* 26, 988-995.
- LEE RC. FRANK EH. GRODZINSKY AJ. ROYLANCE DK. (1981). Oscillatory compressional behavior of articular cartilage and its associated electromechanical properties. *J. Biomech. Eng.* 103, 280.
- LEMPERG RK. BERGENHOLTZ A. SMITH TWD. (1975). Calf articular cartilage in organ culture in a chemically defined medium. 2. Concentrations of glycosaminoglycans and [35]-sulfate incorporation at different oxygen tensions. *In Vitro* 11, 291-301.
- LEMPERG RK. LARSSON S-E. HJERT-QUIST S-O. (1974). The glycosaminoglycans of bovine articular cartilage. I. Concentration and distribution in different layers in relation to age. *Calcif. Tissue Res.* 15, 237-251.
- LEVICK JR. (1981). Permeability of rheumatoid and normal human synovium to specific plasma proteins. *Arthritis Rheum.* 24, 1550-1560.
- LEVICK JR. (1983). Synovial fluids dynamics. En *Studies in Joint Disease*. (2° ed.) (Ed.: A. Maroudas & E.J. Holborow), pp. 153-240. London: Pitman.
- LEVINE JD. DARDICK SJ. BASBAUM AI. SCIPIO E. (1985). Contribution of the peripheral nervous system to spatially remote inflammatory responses that follow injury. *J. Neurosci.* 5(5), 1380-1386.
- LIBBY WF. BERGER R. MEAD JF. ALEXANDER GV. ROSS JF. (1964). Replacement rates for human tissue from atmospheric radiocarbon. *Science* 146, 1170-1172.
- LILLIE RD. (1954). *Histopathologic Technic and Practical Histochemistry*. New York: McGraw-Hill.
- LINCK G. PORTE A. (1978a). B-Cells of the synovial membrane. I. A comparative ultrastructural study in some mammals. *Cell Tissue Res.* 187, 251-261.
- LINCK G. PORTE A. (1978b). B-Cells of the synovial membrane. II. Differentiation during development of the synovial cavity in the mouse. *Cell Tissue Res.* 195, 251-265.
- LINCK G. PORTE A. (1981). B-Cells of the synovial membrane. IV. Ultrastructural evidence of secretory variations in hypophysectomized or propylthiouracyl-treated mice. *Cell Tissue Res.* 218, 123-128.
- LINCH MJ. RAPHAEL SS. MELLOR LD. SPARE PD. INWOOD MJH. (1972). Fibras del tejido conectivo. En *Métodos de laboratorio*. (Ed.: los mismos), pp. 1238-1249. México: Nueva Editorial Interamericana S.A. DC.V.
- LINDAHL U. HÖÖK M. (1978). Glycosaminoglycans and their binding to biological macromolecules. *Ann. Rev. Biochem.* 47, 385-417.
- LINDBERG H. ROOS H. GARDSSELL P. (1993). The relationship between soccer
-

- and coxarthrosis. *Acta Orthop. Scand.* 64 (Suppl 2.), 53-60.
- LINSENMEYER TF. MENTZER A. IRWIN MH. WALDREP NK. MAYNE R. (1986). Avian type VI collagen. Monoclonal antibody production and immunohistochemical identification as a major connective tissue component of cornea and skeletal muscle. *Exp. Cell Res.* 165 (2), 518-529.
- LINSS VW. NEUPERT G. LANGBEIN L. (1986). [Intermediate filaments in chondrocytes of the hyaline cartilage]. *Acta Histochem.* 80, 29-34.
- LIPIELLO L. HALL D. MANKIN HJ. (1977). Collagen synthesis in normal and osteoarthritic human cartilage. *J. Clin. Invest.* 59, 593-600.
- LIPIELLO L. KAYE C. NEUMATA T. MANKIN HJ. (1985). "In vitro" metabolic response of articular cartilage segments to low levels of hydrostatic pressure. *Connect. Tissue Res.* 13 (2), 99-107.
- LITTLE K. PINUN LH. TRUETA J. (1958). Osteoarthritis of the hip. *J. Bone Joint Surg.* 40-B, 123-130.
- LLUSA-PÉREZ M. SUSO-VERGARA S. RUANO-GIL D. (1988). Recording of chick embryo movements and their correlation with joint development. *Acta Anat.* 132, 55-58.
- LOHMANDER LS. ANTONOPOULOS CA. FRIBERG U. (1973). Chemical and metabolic heterogeneity of chondroitin sulfate and keratan sulfate in guinea pig cartilage and nucleus pulposus. *Biochim. Biophys. Acta* 304, 430-448.
- LOHMANDER LS. DE LUCA S. NILSSON B. HASCALL VC. CAPUTO CB. KIMURA JH. HEINEGÄRD D. (1980). Oligosaccharides on proteoglycans from the swarm rat chondrosarcoma. *J. Biol. Chem.* 255 (13), 6084-6091.
- LOHMANDER LS. FELLINI SA. KIMURA JH. STEVENS RL. HASCALL VC. (1983). Formation of proteoglycan aggregates in rat chondrosarcoma chondrocyte cultures treated with tunicamycin. *J. Biol. Chem.* 258 (20), 12280-12286.
- LOHMANDER LS. KIMURA JH. (1986). Biosynthesis of cartilage proteoglycan. In *Articular Cartilage Biochemistry*. (Ed.: KE. Kuettner, R. Schleyerbach & VC. Hascall), pp. 93-110. New York: Raven Press.
- LONGMORE RB. GARDNER DL. (1975). Development with age of human articular cartilage surface structure. *Ann. Rheum. Dis.* 34, 26-37.
- LONGMORE RB. GARDNER DL. (1978). The surface of ageing human articular cartilage: a study by reflected light interference microscopy (RLIM). *J. Anat.* 126, 353-365.
- LONGMUIR IS. (1957). Respiration rate of rat liver cells at low oxygen concentration. *Biochem J.* 65, 378-382.
- LOTKE PA. BLACK J. RICHARDSON S. (1974). Electromechanical properties in human articular cartilage. *J. Bone Joint Surg.* 56-A (5), 1040-1046.
- LUKOSCHEK M. BOYD RD. SCHAFFLER MB. BURR DB. RADIN EL. (1986). Comparison of joint degeneration models: surgical instability and repetitive impulsive loading. *Acta Orthop. Scand.* 57, 349-353.
- LUST G. SUMMERS BA. (1981). Early, asymptomatic stage of degenerative joint disease in canine hip joints. *Am. J. Vet. Res.* 42, 1849-1855.

- MACKIE EJ. THESLEFF I. CHIQUET-EH-RISMANN R. (1987). Tenascin is associated with chondrogenic and osteogenic differentiation in vivo and promotes chondrogenesis in vitro. *J. Cell Biol.* 105 (6), 2569-2579.
- MAEDA M. KANIE R. IMAIZUMI T. JAMATA S. OHTA H. KATOH T. ABEMATSU N. (1979). Changes of articular cartilage of long-term over-exercised bipedal rats. *J. Clin. Electron Microscopy* 12, 5.
- MAGYAR E. TALERMAN A. FEHER M. WOUTERS HW. (1974). The pathogenesis of the subchondral pseudocysts in rheumatoid arthritis. *Clin. Orthop.* 100 (0), 341-344.
- MAINARDI CL. WALTER JM. SPIEGEL PK. GOLDKAMP OG. HARRIS ED. Jr. (1979). Rheumatoid arthritis: failure of daily heat therapy to affect its progression. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 60 (9), 390-393.
- MAJACK RA. BORNSTEIN P. (1984). Heparin and related glycosaminoglycans modulate the secretory phenotype of vascular smooth muscle cells. *J. Cell Biol.* 99, 1688-1695.
- MAJACK RA. BORNSTEIN P. (1985a). Heparin regulates the collagen phenotype of vascular smooth muscle cells: induced synthesis of an Mr 60.000 collagen. *J. Cell Biol.* 100, 125-135.
- MAJACK RA. BORNSTEIN P. (1985b). Heparin alters the biosynthetic phenotype of vascular smooth muscle cells. *Ann. NY Acad. Sci.* 460, 172-180.
- MALEMUD CJ. (1985). Proteolytic degradation of cartilage sulfated-proteoglycans and its consequence in the osteoarthritic proces. (Proc. of the XVIth Int. Cong., Sydney, Australia, 19-25 May 1985). (Ed.: P.M. Brooks & J.R. York). *Rheumatology* 85, 85-89. Amsterdam: pp: Elsevier Publishers B.V. (Biomedical Division).
- MANKIN HJ. (1974). The reaction of articular cartilage to injury and osteoarthritis. Partes I y II. *N. Eng. J. Med.* 291, 1285-1292, 1335-1340.
- MANKIN HJ. BARON PA. (1965). The effect of aging on protein synthesis in articular cartilage of rabbits. *Lab. Invest.* 14, 658-664.
- MANKIN HJ. BRANDT KD. SHULMAN (1986). LE. *Workshop on etiopathogenesis of osteoarthritis.* *J. Rheumatol.* 13, 1126-1160.
- MANKIN HJ. DORFMAN H. LIPIELLO L. ZARINS A. (1971). Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteoarthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data. *J. Bone Joint Surg.* 53-A (3), 523-537.
- MANKIN HJ. ZARINS A. (1975). Water content and binding in normal and osteoarthritic human cartilage. *J. Bone Joint Surg.* 57-A (1), 76-80.
- MAPP P. KIDD B. MERRY P. GIBSON S. POLAK J. BLAKE D. (1989). Neuropeptides are found in normal and inflamed synovium. *Br. J. Rheumatol.* 28 (suppl. 3), 8.
- MARCUS RE. (1973). The effect of low oxygen concentration on growth, glycolysis and sulphate incorporation by articular chondrocytes in monolayer culture. *Arthritis Rheum.* 16, 646-656.
-

- MAROUDAS A. (1970). Distribution and diffusion of solutes in articular cartilage. *Biophys. J.* 10, 365-379.
- MAROUDAS A. (1975). Biophysical chemistry of cartilaginous tissue with special reference to solute and fluid transport. *Biorheology* 12, 233-248.
- MAROUDAS A. (1976a). Balance between swelling pressure and collagen tension in normal and degenerate cartilage. *Nature* 260, 808-809.
- MAROUDAS A. (1976b). Transport of solutes through cartilage: permeability to large molecules. *J. Anat.* 122 (2), 335-347.
- MAROUDAS A. (1979). Physicochemical properties of articular cartilage. En *Adult articular cartilage, 2nd ed.* (Ed.: M.A.R. Freeman), pp. 215-290. London: Pitman Medical Publishing Co.
- MAROUDAS A. (1980a). Metabolism of cartilaginous tissues: a quantitative approach. En *Studies in Joint Disease.* (Ed.: A. Maroudas & E.J. Holborow), vol. 1, pp. 59-86. Tunbridge Wells (England): Pitman Medical Publishing Co.
- MAROUDAS A. (1980b). Physical chemistry of articular cartilage and the intervertebral disc. En *The Joints and Synovial Fluid.* (Ed.: L. Sokoloff), pp. 95-137. New York: Academic Press.
- MAROUDAS A. EVANS H. (1974). Sulphate diffusion and incorporation into human articular cartilage. *Biochim. Biophys. Acta* 338, 265-279.
- MAROUDAS A. EVANS H. ALMEIDA L. (1973). Cartilage of the hip joint: topographical variation of glycosaminoglycan content in normal and fibrillated tissue. *Ann. Rheum. Dis.* 32, 1-9.
- MAROUDAS A. MIZRAHI J. KATZ EP. WACHTEL EJ. SOUDRY M. (1986). Articular Cartilage Biochemistry. (Ed.: KE. Kuettner, R. Schleyerbach & VC. Hascall), pp. 311-327. New York: Raven Press.
- MAROUDAS A. MUIR H. WINGHAM J. (1969). The correlation of fixed negative charge with glycosaminoglycan content of human articular cartilage. *Biochim. Biophys. Acta* 177, 492-500.
- MAROUDAS A. VENN MF. (1977). Chemical composition and swelling of normal and osteoarthritic femoral head cartilage. II. Swelling. *Ann. Rheum. Dis.* 36, 399-406.
- MARSH JM. ROBACK DW. ROSS GT. (1982). In vitro conditions affecting the synthesis of sulfated proteoglycans by normal and rheumatoid synovial cells in culture. *Arthritis Rheum.* 25, 196-203.
- MARTI B. KNOBLOCH M. TSCHOPP A. JUCKER A. HOWARD H. (1989). Is excessive running predictive of degenerative hip disease?. Controlled study of former athletes. *Br. Med. J.* 299, 91-93.
- MARTIN AVW., (1954). An electron microscopy study of the cartilaginous matrix in the developing tibia of the fowl. *J. Embriol. Exp. Morph.* 2, 38-46.
- MARTIN GR. & TIMPL R. (1987). Laminin and other basement membrane components. *Ann. Rev. Cell. Biol.* 3, 57-85.
- MARTIN JA. & BUCKWALTER JA. (1996). Fibronectin and cell shape affect the age related decline in chondrocyte synthetic response to IGF-1. *Tran. Orth. Res. Soc.* 20, 392.
- MATTHEWS BF. (1952). Collagen/chondroitin sulfate ratio of human articular cartilage related to function. *Br. Med. J.* 2, 1295.

- MAYNE R. (1988). comunicación personal a BURGESON. En *New collagens, new concepts. Am. Rev. Cell. Biol.* 4, 551-577.
- MAYNE R. BURGESON R. (1987). *Structure and Function of Collagen Types*. New York: Academic Press.
- MAYNE R. IRWIN MH. (1986). Collagen types in cartilage. En *Articular cartilage biochemistry*. (Ed.: KE. Kuettner, R. Schleyerbach & V.C. Hascall), pp. 23-35. New York: Raven Press.
- MAZHUGA PM. CHERKASOV VV. (1974). Adaptive distribution of specific biosyntheses in homogeneous population of articular cartilage chondrocytes. *Z. Mikrosk. Anat. Forsch.* 88, 364-374.
- McCONAILL MA. (1951). The movements of bones and joints. IV. The mechanical structure of articulating cartilage. *J. Bone Joint Surg.* 33-B (2), 251-257.
- McCORMICK D. van der REST M. GOODSHIP J. LOZANO G. NINOMIYA Y. OLSEN BR. (1987). Structure of the glycosaminoglycan domain in the type IX collagen-proteoglycan. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84, 4044-4048.
- McDERMOTT M. FREYNE, P. (1983). Osteoarthritis in runners with knee pain. *Br. J. Sports Med.* 17, 84-87.
- McDEVITT CA. MUIR IHM. (1976). Biochemical changes in the cartilage of the knee in experimental and natural osteoarthritis in dogs. *J. Bone Joint Surg.* 58-B (1), 94-101.
- McDEVITT CA. PAHL JA. AYAD S. MILLER RR. URATSUJI M. ANDRISH JT. (1988). Experimental osteoarthritic articular cartilage is enriched in guanidine soluble type VI collagen. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 157 (1), 250-255.
- McKIBBIN B. & HOLDSWORTH FW. (1966). The nutrition of immature joint cartilage in the lamb. *J. Bone Joint Surg.* 48, 793-803.
- McKIBBIN B. & HOLDSWORTH FW. (1967). The dual nature of epiphyseal cartilage. *J. Bone Joint Surg.* 49, 351-361.
- MEACHIM G. STOCKWELL RA. (1979). The matrix. En *Adult Articular Cartilage* (Ed.: M.A.R. Freeman), pp. 1-68. Tunbridge Wells: Pitman Medical Publishing Co.
- MERRY AH. HARWOOD R. WOOLLEY DE. GRANT ME. JACKSON DS. (1976). Identification and partial characterization of the non-collagenous amino- and carboxyl-terminal extension peptides of cartilage procollagen. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 71, 83-90.
- MICHELACCI Y. DIETRICH C. (1976). Structure of chondroitin sulphates. Analyses of the products formed from chondroitin sulphates A and C by the action of the chondroitinases C and AC from *Flavobacterium heparinum*. *Biochim. Biophys. Acta.* 451, 436-443.
- MILLER DR. MANKIN HJ. SHOJI H. D'AMBROSIA RD. (1984). Identification of fibronectin in preparations of osteoarthritic human cartilage. *Connect. Tissue Res.* 12 (3-4), 267-275.
- MILLER EJ. (1971). Isolation and characterization of a collagen from chick cartilage containing three identical α chains. *Biochemistry* 10, 1652-1659.

- MILLER EJ. (1978). The collagen of joints. En *The Joints and Synovial Fluid*. (Ed.: L. Sokoloff), pp. 181-185. New York: Academic Press.
- MILLER EJ. LUNDE LG. (1973). Isolation and characterization of the cyanogen bromide peptides from $\alpha 1(\text{II})$ chain of bovine and human cartilage collagen. *Biochemistry* 12, 3153-3159.
- MILLER EJ. MATUKAS VJ. (1969). Chick cartilage collagen: a new type of a $\alpha 1$ chain not present in bone or skin of the species. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 64, 1264-1268.
- MIOSSEC P. SANY J. (1987). Aspects actuels de l'immunologie du cartilage articulaire. *Rev. Rhum. Mal. Osteoartic.* 54 (7-9), 595-600.
- MIOSSEC P. SANY J. (1989). Cartilage et synoviale. *Rev. Rhum. Mal. Osteoartic.* 56 (8-9), 605-608.
- MITCHELL D. HARDINGHAM TE. (1981). The effects of cicloheximide on the biosynthesis and secretion of proteoglycans by chondrocytes in culture. *Biochem. J.* 196, 521-529.
- MITNICK H. HOFFSTEIN S. WEISSMAN G. (1978). Fat of antigen after intravenous and intraarticular injection into rabbits. *Arthritis Rheum.* 21, 918-929.
- MITROVIC D. (1977). Development of metatarsophalangeal joint of the chick embryo: morphological, ultrastructural and histochemical studies. *Am. J. Anat.* 150, 333-348.
- MITROVIC D. (1982). Development of the articular cavity in paralyzed chick embryo limb buds cultured on chorioallantoic membranes. *Acta Anat.* 113, 313-324.
- MIYAHARA M. HAYASHI K. BERGERG J. TANZAWA K. NJEHA FK. TRELS-TAD RL. PROCKOP DJ. (1984). Formation of collagen fibrils by enzyme cleavage of precursors of type I collagen in vitro. *J. Biol. Chem.* 259 (15), 9891-9898.
- MIZRAHI J. MAROUDAS A. LANIR Y. ZIV I. WEBBER TJ. (1986). The "instantaneous" deformation of cartilage: effects of collagen fiber orientation and osmotic stress. *Biorheology* 23, 311-330.
- MOHR W. (1986). Pathomorphologische Aspekte zur konservative Therapie der Arthrose. *Orthopade* 15 (5), 366-378.
- MOORE AR. CHANDER CL. HANAHOE TH. HOWAT DW. DESA FM. COLVILLE-NASH PR. WILLOUGHBY DA. (1989). The chemotactic properties of cartilage glycosaminoglycans for polymorphonuclear neutrophils. *Int. J. Tissue React.* 11 (6), 301-307.
- MORALES TI. HASCALL VC. (1988). Correlated metabolism of proteoglycans and hyaluronic acid in bovine cartilage organ cultures. *J. Biol. Chem.* 263 (8), 3632-3638.
- MORALES TI. HASCALL VC. (1989). Specificity of action of lipopolysaccharide on bovine articular cartilage metabolism: a comparison with interleukin-1. *Connect. Tissue. Res.* 19, 255-275.
- MORRIS NP. (1988). comunicación personal a Burgeson. En *New collagens, new concepts.* *Am. Rev. Cell. Biol.* 4, 551-577.
- MORRIS NP. BACHINGER HP. (1987). Type XI collagen is an heterotrimer with the composition (1α , 2α , 3α) retaining non-triple-helical domains. *J. Biol. Chem.* 262 (23), 11345-11350.
- MORT JS. CAMPBELL IK. GUTTMAN A. GOLDS EE. ROUGHLEY PJ. (1987). The role of mononuclear cell products as

- modulators of cartilage degradation. *J. Rheumatol.* 14, 86-87.
- MORT JS. CATERSON B. POOLE AR. ROUGHLEY PJ. (1985). The origin of human cartilage proteoglycan link-protein heterogeneity and fragmentation during ageing. *Biochem. J.* 232, 269-272.
- MORT JS. POOLE AR. ROUGHLEY PJ. (1983). Age-related changes in the structure of proteoglycan link-proteins present in normal human cartilage. *Biochem. J.* 214, 269-272.
- MOSCATELLI DA. RIFKIN DB. JAFFE EA. (1985). Production of latent collagenase by human umbilical vein endothelial cells in response to angiogenic preparations. *Exp. Cell. Res.* 156 (2), 379-390.
- MOSHER DF. JOHNSON RB. (1983). In vitro formation of disulfide-bonded fibronectin multimers. *J. Biol. Chem.* 258, 6595-6601.
- MOSKOWITZ RW. (1992). Experimental models of osteoarthritis. En *Osteoarthritis diagnosis and medical surgical management*. (Ed.: RW. Moskowitz, DS. Howell & VM Goldberg), pp. 213-232. Philadelphia: WB Saunders.
- MOSKOWITZ RW. GOLDBERG VM. HOWELL DS. PITA JC. MALEMUD CJ. (1982). Qualitative proteoglycan (PG) synthesis in normal and experimental osteoarthritic (OA) cartilage. *Arthritis Rheum.* 25, 102-114.
- MOSKOWITZ RW. HOWELL DS. GOLDBERG VM. MUNIZ O. PITA JC. (1979). Cartilage proteoglycan alterations in an experimentally induced model of rabbit osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 22, 155-163.
- MOULD AP. HULMES DJS. (1987). Surface-induced aggregation of type I procollagen. *J. Mol. Biol.* 195, 543-553.
- MOW VC. HOLMES MH. LAI WM. (1984). Fluid transport and mechanical properties of articular cartilage a review. *J. Biomech.* 17, 377-394.
- MOW VC. KUEI SC. LAI WM. ARMS-TRONG CG. (1980). Biphasic creep and stress relaxation of articular cartilage in compression: theory and experiments. *J. Biomech. Eng.* 102 (1), 73-84.
- MOW VC. LAI WM. REDLER I. (1974). Some surface characteristics of articular cartilage. I. A scanning electron microscopy study and a theoretical model for the dynamic interaction of synovial fluid and articular cartilage. *J. Biomech.* 7, 449-456.
- MOW VC. ROSENWASSER MP. (1988). En *Injury and repair of the musculoskeletal soft tissues*. (Ed.: Woo SL. Buckwalter JA.), pp. 427-463. Illinois: American Academy of Orthopaedic Surgeons.
- MÜLLER PK. JAMHAWI O. (1974). The biosynthesis of a precursor of cartilage collagen by embryonic chicken sterna in the presence of α , α' -dipyridyl. *Biochim. Biophys. Acta* 365, 158-168.
- MUELLER W. (1929). Über den negativen Lufdruck im Gelenkram. *Dtsch. Z. Chir.* 218, 395-401.
- MUIR IHM. (1979). Biochemistry. En *Adult Articular Cartilage*. (Ed.: M.A.R. Freeman), pp. 145-214. London: Pitman Medical Publishing Co.
- MUIR IHM. (1980). The chemistry of the ground substance of joint cartilage. En *The joints and synovial fluid. Vol. II*. (Ed.: L.

- Sokoloff), pp. 27-94. New York and London: Academic Press.
- MURTHU. BULLOUGH P. MAROUDAS A. (1970). The distribution of collagen in human articular cartilage with some of its physiological implications. *J. Bone Joint Surg.* 52-B (3), 554-563.
- MÜLLER FJ. PITA JC. MANICOURT DH. MALININ TI. SCHOONBECK JM. MOW VC. (1989). Centrifugal characterization of proteoglycans from various depth layers and weight-bearing areas of normal and abnormal human articular cartilage. *J. Orthop. Res.* 7, 326-334.
- MÜLLER-GERBL M. SCHULTE E. PUTZ R. (1987). The thickness of the calcified layer of articular cartilage: a function of the load supported?. *J. Anat.* 154, 103-111.
- MULLER-GLAUSER W. HUMBEL B. GLATT M. STRAULI P. WINTERHALTER KH. BRUCKNER P. (1986). On the role of type IX collagen in the extracellular matrix of cartilage: type IX collagen is localized to intersections of collagen fibrils. *J. Cell Biol.* 102 (5), 1931-1939.
- MURPHY G. McGUIRE MB. RUSSELL RGG. REYNOLDS JJ. (1981). Characterization of collagenase, other metalloproteinases and an inhibitor (TIMP) produced by human synovium and cartilage in culture. *Clin. Sci.* 61 (6), 711-716.
- MYERS DB. PALMER DG. (1972). Capsular compliance and pressure-volume relationships in normal and arthritic knees. *J. Bone Joint Surg.* 54-B (4), 710-716.
- MYERS ER. MOW VC. (1983). Biomechanics of cartilage and its response to biomechanical stimuli. En *Cartilage. Vol: I. Structure, Function and Biochemistry.* (Ed.: B.K. Hall), pp. 313-341. New York: Academic Press.
- MYERS JC. EMANUEL BS. (1987). Chromosomal localization of human collagen genes. *Collagen Relat. Res.* 7 (2), 149-159.
- NAGASE H. CAWSTON TE. DeSILVA M. BARRETT AJ. (1982). Identification of plasma kallikrein as an activator of latent collagenase in rheumatoid synovial fluid. *Biochim. Biophys. Acta* 702 (1), 133-142.
- NEAME PJ. CHRISTNER JE. BAKER JR. (1987). Cartilage Proteoglycan Aggregates. *J. Biol. Chem.* 262, 17768-17778.
- NETTELBLADT E. SUNBLADT L. JONSSON E. (1963). Permeability of the synovial membrane to proteins. *Acta Rheum. Scand.* 9, 28-32.
- NEWMAN SA. FRENZ DA. TOMASEK JJ. RABUZZI DD. (1985). Matrix-driven translocation of cells and nonliving particles. *Science* 228 (4701), 885-889.
- NEWTON PM. MOW VC. BUCKWALTER JA. ALBRIGHT JP. The effect of life long exercise on canine articular cartilage. *Am. J. Sports Med.* (En prensa).
- NEYRET P. DONELL ST. DJOUR H. (1993). Results of partial meniscectomy related to the state of the anterior cruciate ligament. *J. Bone Joint Surg. [Br.]*, 75, 36-40.
- NGUYEN Q. MORT JS. ROUGHLEY PJ. (1990). Cartilage proteoglycan aggregate is degraded more extensively by cathepsin L than by cathepsin B. *Biochem. J.*, 266 (2), 569-573.
- NGUYEN Q. MORT JS. ROUGHLEY PJ. (1992). Preferential mRNA expression of

- prostromelysin relative to procollagenase and in situ localization in human articular cartilage. *J. Clin. Invest.* 89, 1189-1197.
- NGUYEN Q. MURPHY G. ROUGHLEY PJ. MORT JS. (1989). Degradation of proteoglycan aggregate by a cartilage metalloproteinase. Evidence for the involvement of stromelysin in the generation of link protein heterogeneity in situ. *Biochem. J.* 259, 61-67.
- NINOMIYA Y. CASTAGNOLA P. GERECKE D. GORDON M. JACENKO O. (1989). Collagen Genes: Structure, Regulation and Abnormalities. (Ed.: C Boyd, L. Sandell & P. Byers). New York: Academic Press.
- NINOMIYA Y. van der REST M. MAYNE R. LOZANO G. OLSEN BR. (1985). Construction and characterization of cDNA encoding the $\alpha 2$ chain of chicken type IX collagen. *Biochemistry* 24 (15), 4223-4229.
- NORTON WL. LEWIS DC. ZIFF M. (1968). Electron-dense deposits following injection of gold sodium thiomalate and thiomalic acid. *Arthritis Rheum.* 11 (3), 436-443.
- O'CONNOR BL. VISCO DM. BRANDT KD. (1989). The development of experimental osteoarthritis (OA) in dogs with extensively deafferented knee joints. *Arthritis Rheum.* 32(Suppl. 4), 510-516.
- O'CONNOR BL. VISCO DM. BRANDT KD. MEYERS SL. KALASINSKI LA. (1992). Neurogenic acceleration of osteoarthritis. *J. Bone Joint Surg. [Am.]* 74, 367-376.
- ÖBRINK B. (1973). A study of the interactions between monomeric tropocollagen and glycosaminoglycans. *Eur. J. Biochem.* 33, 387-400.
- ÖBRINK B. LAURENT TC. CARLSSON B. (1975). The binding of chondroitin sulphate to collagens. *FEBS Lett.* 56, 166-1669.
- OEGEMA TR. BEHRENS F. (1981). Proteoglycan aggregate synthesis in normal and chronically hydrocortisone-suppressed rabbit articular cartilage. *Arch. Biochem. Biophys.* 206, 277-284.
- OEGEMA TR. THOMPSON RC. (1995). Histopathology and pathobiochemistry of the cartilage-bone interface in osteoarthritis. En *Osteoarthritic Disorders*. (Ed.: KE. Kuettner & VM. -Goldberg), pp. 205-217. Rosemont, Illinois: American Academy of Orthopaedic Surgeons.
- OETTMEIER R. ABENDROTH K. OETTMEIER S. (1989a). Analyses of the tidemark on human femoral heads. I. Histological, ultrastructural and microanalytic characterization of the normal structure of the intercartilaginous junction. *Acta Morphol. Hung.* 37 (3-4), 155-168.
- OETTMEIER R. ABENDROTH K. OETTMEIER S. (1989b). Analyses of the tidemark on human femoral heads. II. Tidemark changes in osteoarthritis - a histological and histomorphometric study in non-decalcified preparations. *Acta Morphol. Hung.* 37 (3-4), 169-180.
- OETTMEIER R. AROKOSKI J. ROTH AJ. ABENDROTH K. JURVELIN J. TAMMI M. KIVIRANTA I. HELMINEN HJ. (1992a). Subchondral bone and articular cartilage response to long distance running training (40 km per day) in the beagle knee joint. *Eur. J. Exp. Musculoskel. Res.* 1, 145-154.
- OETTMEIER R. AROKOSKI J. ROTH AJ. HELMINEN HJ. TAMMI M. ABEN-

- DROTH K. (1992b). Quantitative study of articular cartilage and subchondral bone remodelling in the knee joint of dogs after strenuous running training. *J. Bone Miner. Res. (Suppl. 2)*, S409-S414.
- OLAH EH. KOSTENSKY KS. (1972). Effect of altered functional demand on the glycosaminoglycan content of the articular cartilage of dogs. *Acta Biol. Acad. Sci. Hung. 23(2)*, 195-200.
- OKADA Y. KONOMI H. YADA T. KIMATA K. NAGASE H. (1989). Degradation of type IX collagen by matrix metalloproteinase 3 (stromelysin) from human rheumatoid synovial cells. *FEBS Let. 244 (2)*, 473-476.
- OKADA Y. NAGASE H. HARRIS ED.Jr. (1986). A metalloproteinase from human rheumatoid synovial fibroblasts that digests connective tissue matrix components. Purification and characterization. *J. Biol. Chem. 261 (30)*, 14245-14255.
- OKADA Y. NAKANISHI I. KAJIKAWA K. (1981). Ultrastructure of the mouse synovial membrane. *Arthritis Rheum. 24*, 835-843.
- OLDBERG, Å. ANTONSSON, P. HEINEGÅRD D. (1987). The partial amino acid sequence of bovine cartilage proteoglycan, deduced from a cDNA clone, contains numerous Ser-Gly sequences arranged in homologous repeats. *Biochem. J. 243*, 255-259.
- OLDBERG Å. RUOSLAHTI, E. (1982). Interactions between chondroitin sulfate proteoglycan, fibronectin, and collagen. *J. Biol. Chem. 257*, 4859-4863.
- OLLIVIERRE F. GUBLER U. TOWLE CA. LAURENCIN C. TREADWELL BV. (1986). Expression of IL-1 genes in human and bovine chondrocytes: a mechanism for autocrine control of cartilage matrix degradation. *Biochem. Biophys. Res. Commun 141 (3)*, 904-911.
- OOHIRA A. NOGAMI H. KUSAKABE A. KIMATA K. SUZUKI S. (1979). Structural differences among procollagen associated with rough and smooth microsomes from chick embryo cartilage. *J. Biol. Chem. 254*, 3576-3783.
- ORFORD CR. GARDNER DL. (1984). Proteoglycan association with collagen d band in hyaline articular cartilage. *Connect. Tissue res. 12 (3-4)*, 345-348.
- OWENS RJ. BARALLE FE. (1986). Mapping the collagen-binding site of human fibronectin by expression in *Escherichia coli*. *EMBO J. 5 (11)*, 2825-2830.
- PAFFENBARGER RS. HYDE RT. WING AL. HSICH CC. (1986). Physical activity, all-cause mortality, and longevity of college alumni. *N. Engl. J. Med. 314*, 605-613.
- PALMOSKI MJ. BRANDT KD. (1981). Running inhibits the reversal of atrophic changes in canine knee cartilage after removal of a leg cast. *Arthritis Rheum. 24*, 1329-1337.
- PALMOSKI MJ. BRANDT KD. (1982a). Immobilization of the knee prevents osteoarthritis after anterior cruciate ligament transection. *Arthritis Rheum. 25*, 1201-1208.
- PALMOSKI MJ. BRANDT KD. (1982b). Aspirin aggravates the degeneration of canine joint cartilage caused by immobilization. *Arthritis Rheum. 25*, 1333-1342.
- PALMOSKI MJ. BRANDT KD. (1984). Effects of static and cyclic compressive loading on articular cartilage plugs in vitro. *Arthritis Rheum. 27*, 675-681.
- PALMOSKI MJ. COLYER RA. BRANDT KD. (1980). Joint motion in absence of

- normal loadings does not maintain articular cartilage. *Arthritis Rheum.* 23(3), 325-334.
- PALMOSKI MJ. PERRICONE E. BRANDT KD. (1979). Development and reversal of a proteoglycan aggregation defect in normal canine knee cartilage after immobilization. *Arthritis Rheum.* 22, 508-517.
- PANUSH RS. SCHMIDT C. CALDWELL JR. EDWARDS NN. LONGLEY S. YONKER R. WEBSTER E. NAUMAN J. STORK J. PETTERSON H. (1986). Is running associated with degenerative joint disease?. *JAMA.* 255, 1152-1154.
- PATURET G. (1951). *Traité d'Anatomie Humaine.* vol I. Paris: Masson & Cie, Éditeurs.
- PAUKKONEN K. HELMINEN HJ. (1987a). Decrease of proteoglycan granule number but increase of their size in articular cartilage of young rabbits after physical exercise and immobilization by splinting. *Anat. Rec.* 219, 45-52.
- PAUKKONEN K. HELMINEN HJ. (1987b). Rough endoplasmatic reticulum and fine intracytoplasmatic filaments in articular cartilage chondrocytes of young rabbits; a stereological morphometric study using transmission electron microscopy. *J. Anat.* 152, 47-54.
- PAUKKONEN K. HELMINEN HJ. (1987c). Chondrocyte ultrastructure in exercise and experimental osteoarthritis. A stereological morphometric study of articular cartilage of young rabbits using transmission electron microscopy. *Clin. Orthop.* 224, 284-288.
- PAUKKONEN K. HELMINEN HJ. TAMMI M. JURVELIN J. KIVIRANTA I. SÄÄMÄNEN AM. (1984a). Quantitative morphological and biochemical investigations on the effects of physical exercise and immobilization on the articular cartilage of young rabbits. *Acta Biol. Hung.* 35 (2-4), 293-304.
- PAUKKONEN K. JURVELIN J. HELMINEN HJ. (1986). Effects of immobilization on the articular cartilage in young rabbits. A quantitative light microscopic stereological study. *Clin. Orthop.* 206, 270-280.
- PAUKKONEN K. SELKÄINAHOK. JURVELIN J. HELMINEN HJ. (1984b). Morphometry of articular cartilage: a stereological method using light microscopy. *Anat. Rec.* 210: 675-682.
- PAUKKONEN K. SELKÄINAHOK. JURVELIN J. KIVIRANTA I. HELMINEN HJ. (1985). Cells and nuclei of articular cartilage chondrocytes in young rabbits enlarged after non-strenuous physical exercise. *J. Anat.* 142, 13-20.
- PEARSON, C.H., WINTERBOTTOM, N., FACKRE, D.S. SCOTT, P.G. (1983). The NH₂-terminal amino acid sequence of bovine skin proteodermatan sulfate. *J. Biol. Chem.* 258, 15101-15104.
- PELLETIER JP. MARTEL-PELLETIER J. ALTMAN RD. GHANDUR-MNAYM-MEH L. HOWELL DS. WOESSNER JF. (1983). Collagenolytic activity and collagen matrix breakdown of the articular cartilage in the Pond-Nuki dog model of osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 26, 866-874.
- PELLETIER JP. MARTEL-PELLETIER J. MALEMUD CJ. (1988). Canine osteoarthritis: effects of endogenous neutral metalloproteoglycanases on articular cartilage proteoglycans. *J. Orthop. Res.* 6, 379-388.
- PENNYPACKER JP. HASSELL JR. YAMADA KM. PRATT RM. (1979). The

- influence of an adhesive cell surface protein on chondrogenic expression in vitro. *Exp. Cell. Res.* 121 (2), 411-415.
- PEPPER MS. VASSALLI JD. MANTESANO R. ORZI L. (1987). Urokinase-type plasminogen activator is induced in migrating capillary endothelial cells. *J. Cell Biol.* 105 (6 Pt 1), 2535-2541.
- PERRIS R. JOHANSSON S. (1987). Amphibian neural crest cell migration on purified extracellular matrix components: A chondroitin sulfate proteoglycan inhibits locomotion on fibronectin substrates. *J. Cell Biol.* 105, 2511-2521.
- PETERSEN TE. THOGERSEN HC. SKORSTENGAARD K. VIBE-PEDERSEN K. SAHL P. SOTTRUP-JENSEN L. MAGNUSSON S. (1983). Partial primary structure of bovine plasma fibronectin: three types of internal homology. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80 (1), 137-141.
- POIRIER P. CHARPY S. NICOLAS A. (1931). *Traité d'Anatomie Humaine*. Paris: Masson et Cie.
- POOLE AR. (1983). Complexity of proteoglycan organization in articular cartilage: recent observations. *J. Rheumatol.* (suppl. 11) 10, 70-74.
- POOLE AR. (1990). Enzymatic degradation: cartilage destruction. En *Cartilage Changes in Osteoarthritis*. (Ed.: KD. Brandt), pp. 63-72. Indiana: Indiana University School of Medicine Press.
- POOLE AR. PIDOUX I. REINER A. TANG LH. CHOI H. ROSENBERG L. (1980). Localization of proteoglycan monomer and link protein in the matrix of bovine articular cartilage: an immunohistochemical study. *J. Histochem. Cytochem.* 28, 621-635.
- POOLE AR. REINER A. INONESCU M. (1991). Immunochemical analyses of the small proteoglycans decorin and biglycan in normal and osteoarthritic human cartilages. *Trans. Combined Ortho. Res. Soc. USA, Japan, Canada.* 1, 80.
- POOLE CA. AYAD S. SCHOFIELD JR. (1988a). Chondrons from articular cartilage. I. Immunolocalization of type VI collagen in the pericellular capsule of isolated canine tibial chondrons. *J. Cell Sci.* 90(Pt 4), 635-643.
- POOLE CA. FLINT MH. BEAUMONT BW. (1984). Morphological and functional interrelationships of articular cartilage matrices. *J. Anat.* 138 (1), 113-138.
- POOLE CA. FLINT MH. BEAUMONT BW. (1985). Analysis of the morphology and function of primary cilia in connective tissues: a cellular cybernetic probe?. *Cell Motility* 5, 175-193.
- POOLE CA. WATTON SF. DUANCE VC. (1988b). Localization of type IX collagen in chondrons isolated from porcine articular cartilage and rat chondrosarcoma. *Histochem. J.* 20 (10), 567-574.
- PORTNOY DA. ERICKSON AH. KOCHAN J. RAVETCH JV. UNKELESS JC. (1986). Cloning and characterization of a mouse cysteine proteinase. *J. Biol. Chem.* 261 (31), 14697-14703.
- PREHM P. (1984). Hyaluronate is synthesized at plasma membranes. *Biochem. J.* 220, 597-600.
- PROCKOP DJ. KIVIRIKKO KI. TUDERMAN L. GUZMAN N. (1979). The biosynthesis of collagen and its disorders. *New Eng. J. Med.* 301, 13-23, 77-85.
- PRUZANSKY W. RUSSELL ML. GORDON DA. OGRYZLO MA. (1973). Serum and synovial proteins in rheumatoid art-

- hritis and degenerative joint diseases. *Am. J. Med. Sci.* 265 (6), 483-490.
- PURANEN J. ALA-KETOLA L. PELTOKALLIO P. SAARELA J. (1975). Running and primary osteoarthritis of the hip. *Br. Med. J.* 2, 424-425.
- PYTELA R. PIERSCHBACHER MD. RUOSLAHTI E. (1985). Identification and isolation of a 140 Kd cell surface glycoprotein with properties expected of a fibronectin receptor. *Cell* 40, 191-198.
- RADIN EL. (1983). The relationship between biological and mechanical factors in the etiology of osteoarthritis. *J. Rheum. (Suppl.)* 9, 20-27.
- RADIN EL. EHRlich MG. CHERNACK R. ABERNATHY P. PAUL JL. ROSE RN. (1978). Effect of repetitive impulsive loading on the knee joints of rabbits. *Clin. Orthop.* 131, 288-293.
- RADIN EL. MARTIN RB. BURR DB. CARTERSON B. BOYD RD. GOODWIN C. (1984). Effects of mechanical loading on the tissues of the rabbit knee. *J. Orthop. Res.* 24, 1329-1337.
- RADIN EL. PAUL IL. (1971). Response of joints to impact loading: in vitro wear. *Arthritis Rheum.* 14, 356-362.
- RADIN EL. ROSE RM. (1986). Role of subchondral bone in the initiation and progression of cartilage damage. *Clin. Orthop.* 213, 34-40.
- RAJA RH. McGARY CT. WEIGEL PH. (1988). Affinity and distribution of surface and intracellular hyaluronic acid receptors in isolated rat liver endothelial cells. *J. Biol. Chem.* 263, 16661-16668.
- RALL K. McELROY G. KEATS TE. (1984). A study of the long term effects of football injury in the knee. *Mo. Med.* 61, 435-438.
- RANDALL JT. FRASER RDB. JACKSON S. MARTIN AVW. NORTHACT. (1952). Aspects of collagen structure. *Nature* 169, 1029-1034.
- RATCLIFFE A. DOHERTY M. MAINI RN. HARDINGHAM TE. (1988). Increased concentrations of proteoglycan components in the synovial fluids of patients with acute but not chronic joint disease. *Ann. Rheum. Dis.* 47, 826-832.
- RATCLIFFE A. FRYER PR. HARDINGHAM TE. (1984). The distribution of aggregating proteoglycans in articular cartilage: comparison of quantitative immunoelectron microscopy with radioimmunoassay and biochemical analysis. *J. Histochem. Cytochem.* 32, 193-201.
- RATCLIFFE A. FRYER PR. HARDINGHAM TE. (1985). Proteoglycan biosynthesis in chondrocytes: protein A: gold localization of proteoglycan, chondroitin sulfate and link protein within Golgi sub-compartments. *J. Cell. Biol.* 101, 2355-2365.
- REDLER I. MOW VC. ZIMNY ML. MANSELL J. (1975). The ultrastructure and biomechanical significance of the tidemark of articular cartilage. *Clin. Orthop.* 112, 357-362.
- REES JA. ALI SY. BROWN RA. (1987). Ultrastructural localization of fibronectin in human osteoarthritic articular cartilage. *Ann. Rheum. Dis.* 46, 816-822.
- REGINATO AM. SHAPIRO IM. LASH JW. JIMENEZ SA. (1988). Type X collagen alterations in rachitic chick epiphyseal
-

- growth cartilage. *J. Biol. Chem.* 263 (20), 9938-9945.
- REMINGTON MC. BASHEY RI. BRIGHTON CT. JIMENEZ SA. (1984). Biosynthesis of a disulfide bonded short chain collagen by calf growth plate cartilage. *Biochem. J.* 224, 227-233.
- RENKIN EM. (1985). Capillary transport of macromolecules: Pores and other endothelial pathways. *J. Appl. Physiol.* 58, 315-325.
- REPO RU. FINLAY JD. (1977). Survival of articular cartilage after controlled impact. *J. Bone Surg. [Am.].* 59, 1068-1075.
- REPO RU. MITCHELL N. (1971). Collagen synthesis immature articular cartilage of the rabbit. *J. Bone Joint Surg.* 53-B, 541-548.
- RICHTER H. WENDT C. HÖRMANN H. (1985). Aggregation and fibril formation of plasma fibronectin by heparin. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* 366, 509-514.
- ROBERT L. LABAT-ROBERT J. (1986). Les macromolécules de la matrice extracellulaire. *Ann. Biol. Clin.* 44 (2), 145-151.
- ROBERTS CR. MORT JS. ROUGHLEY PJ. (1987). Treatment of cartilage proteoglycan aggregate with hydrogen peroxide. Relationship between observed degradation products and those that occur naturally during aging. *Biochem. J.* 247 (2), 349-357.
- ROBERTS S. WEIGHTMAN B. URBAN J. CHAPPEL D. (1986). Mechanical and biomechanical properties of human articular cartilage in osteoarthritic femoral heads and in autopsy specimens. *J. Bone Joint Surg. [Br.]* 68-B (2), 278-288.
- RODÉN L. (1980). Structure and metabolism of connective tissue proteoglycans. En *The Biochemistry of Glycoproteins and Proteoglycans*. (Ed.: WJ. Lennarz), pp. 267-371. New York: Plenum.
- RODÉN L. KOERNER T. OLSON C. SCHWARTZ NB. (1985). Mechanisms of chain initiation in the biosynthesis of connective tissue polysaccharides. *Fed. Proc.* 44, 373-380.
- RODNAN GP. McLACHLAN MJ. (1960). The absorption of serum albumin and gammaglobulin from the knee joint of man and rabbit. *Arthritis Rheum.* 3, 152-157.
- RONZIERE MC. RICARD-BLUM S. TIOILLIER J. HARTMANN DJ. GARRONE R. HERBAGE D. (1990). Comparative analysis of collagens solubilized from human foetal, and normal and osteoarthritic adult articular cartilage, with emphasis on type VI collagen. *Biochim. Biophys. Acta* 1038, 222-230.
- ROPES MW. BAUER W. (1953). *Synovial Fluid Changes in Joint Diseases*. Cambridge: Harvard University Press.
- ROPES MW. MULLER AF. BAUER W. (1960). The entrance of glucose and other sugars into joints. *Arthritis Rheum.* 3, 496-503.
- ROSENBERG LC. (1971). Chemical basis for the histological use of safranin O in the study of articular cartilage. *J. Bone Joint Surg.* 53-A (1), 69-82.
- ROSENBERG LC. BUCKWALTER JA. (1986). Cartilage proteoglycans. En *Articular Cartilage Biochemistry*. (Ed.: K.E. Kuettner, R. Schleyerbach & V.C. Hascall), pp. 39-57. New York: Raven Press.
- ROSENBERG LC. CHOI HU. JOHNSON TL. PAL S. TANG LH. (1985a). Structural changes in proteoglycans in aging

- articular cartilages. En *Osteoarthritis current clinical and fundamental problems* (Ed.: JG Peyron), pp. 179-191. Paris: Ciba Geyge.
- ROSENBERG LC. CHOI HU. TANG LH. JOHNSON TL. PAL S WEBBER C. REINER A. POOLE AR. (1985b). Isolation of dermatan sulphate proteoglycan from mature bovine articular cartilages. *J. Biol. Chem.* 260, 6304-6313.
- ROSENBERG LC. HELLMANN W. KLEINSCHMIDT AK. (1975). Electron microscopic studies of proteoglycan aggregates from bovine articular cartilage. *J. Biol. Chem.* 250, 1877-1883.
- ROSENTHAL O. BOWIE MA. WAGONER G. (1941). Studies on the metabolism of articular cartilage. I. Respiration and glycolysis in relation to its age. *J. Cell Comp. Physiol.* 17, 221-233.
- ROTH JH. MENDENHALL HV. McPHERSON GK. (1988). The effect of immobilization on goat knees following reconstruction of the anterior cruciate ligament. *Clin. Orthop. Rel. Res.* 229, 278-282.
- ROTH V. MOW VC. (1980). The intrinsic tensile behaviour of the matrix bovine articular cartilage and its variation with age. *J. Bone Joint Surg.* 62-A (7), 1102-1117.
- ROUGHLEY PJ. (1977). The degradation of cartilage proteoglycans by tissue proteinases. Proteoglycan heterogeneity and the pathway of proteolytic degradation. *Biochem. J.* 167 (3), 639-646.
- ROUGHLEY PJ. (1987). Structural changes in the proteoglycans of human articular cartilage during aging. *J. Rheumatol.* 14 Spec., 14-15.
- ROUGHLEY PJ. (1993). Articular cartilage: matrix changes with aging. En *Soft tissue ageing: impact on musculoskeletal function and movility*. (Ed.: JA Buckwalter, VM Goldberg & SL-Y Woo), pp. 151-164. Rosemont, Illinois: American Academy of Orthopaedic Surgeons.
- ROUGHLEY PJ. MORT JS. (1986). Ageing and the aggregating proteoglycans of human articular cartilage. *Clin. Sci.* 71, 337-344.
- ROUGHLEY PJ. WHITE RJ. POOLE AR. (1985). Identification of a hyaluronic acid-binding protein that interferes with the preparation of high-bouyant-density proteoglycan aggregates from adult human articular cartilage. *Biochem J.* 231 (1), 129-138.
- ROUX W. (1895). *Gesammelte Abhandlungen uber Entwicklungsmechanik der Organismen*. Leipzig: Wilhelm Engelmann.
- ROY S. (1970). Ultrastructure of articular cartilage in experimental immobilization. *Ann. Rheum. Dis.* 29, 634-641.
- ROY S. GHADIALLY FN. (1967). Synthesis of hyaluronic acid by synovial cells. *J. Pathol. Bacteriol.* 93, 555-557
- ROY S. GHADIALLY FN. CRANE WAJ. (1966). Synovial membrane in traumatic effusion: ultrastructure and autoradiography with tritiated leucine. *Ann. Rheum. Dis.* 25, 259-271.
- RUANO-GIL D. NARDI-VILARDAGA J. TEIXIDOR-JOHE A. (1985). Embryonal hypermobility and articular development. *Acta Anat.* 123, 90-92.
- RUDDY S. (1974). Synovial fluid: Mirror of the inflammatory lesion in rheumatoid arthritis.

- tis. En *Rheumatoid Arthritis* (Ed.: E.D.Jr. Harris), pp. 58-71. New York: Medcom Press.
- RUEGG K. CHIQUET-EHRISMANN R. ALKAN SS. (1989). Tenascin, an extracellular matrix protein, exerts immunomodulatory activities. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86, 7437-7441.
- RUOSLAHTI E. (1988a). Fibronectin and its receptors. *Ann. Rev. Biochem.* 57, 375-413.
- RUOSLAHTI E. (1988b). Structure and biology of proteoglycans. *Ann. Rev. Cell. Biol.* 4, 229-255.
- RUOSLAHTI E. PIERSCHBACHER MD. (1986). Arg-Gly-Asp: a versatile cell recognition signal. *Cell* 44 (4), 517-518.
- RUOSLAHTI E. PIERSCHBACHER MD. (1987). New perspectives in cell adhesion: RGD and integrins. *Science* 238, 491-497.
- RUTHEB. (1946). A note on the fibrillar structure of the hyaline cartilage. *Anat. Record* 96, 93-101.
- RYU J. TREADWELL BV. MANKIN HJ. (1984). Biochemical and metabolic abnormalities in normal and osteoarthritic human articular cartilage. *Arthritis Rheum.* 27, 49-57.
- SÄÄF J. (1950). Effects of exercise on adult articular cartilage. An experimental study on guinea-pigs with relevance to the continuous regeneration of adult cartilage. *Acta Orthop. Scan. (Suppl.)* 7 (7), 1-86.
- SÄÄMÄNEN AM. TAMMI M. JURVELIN J. KIVIRANTA I. HELMINEN HJ. (1990). Proteoglycan alterations following immobilization and remobilization in the articular cartilage of young canine knee (stifle) joint. *J. Orthop. Res.* 8, 863-873.
- SÄÄMÄNEN AM. TAMMI M. KIVIRANTA I. JURVELIN J. HELMINEN HJ. (1986). Moderate running increased but strenuous running prevented elevation of proteoglycan content in the canine articular cartilage. *Scand. J. Rheumatol. (Suppl. 60)*, 45.
- SÄÄMÄNEN AM. TAMMI M. KIVIRANTA I. JURVELIN J. HELMINEN HJ. (1989). Levels of chondroitin-6-sulfate and non aggregating proteoglycans at articular cartilage contact sites in the knees of young dog subjected to moderate running exercise. *Arthritis Rheum.* 32, 1282-1292.
- SALO T. TURPEENNIEMI-HUJANEN T. TRYGGVASON K. (1985). Tumor-promoting phorbol esters and cell proliferation stimulate secretion of basement membrane (type IV) collagen-degrading metalloproteinase by human fibroblasts. *J. Biol. Chem.* 260 (14), 8526-8531.
- SALTER DM. (1993). Tenascin is increased in cartilage and synovium from arthritic knees. *British J. Rheumatol.* 32, 780-786.
- SALTER RB. FIELD P. (1960). The effects of continuous compression on living articular cartilage. An experimental investigation. *J. Bone Joint Surg.* 42-A, 31-49.
- SALTER RB. MINSTER RR. BELL RS. WONG DA. BOGOEH ER. (1982). Continuous passive motion and the repair of full thickness articular cartilage defects: A one year follow up. *Trans. Orthop. Res. Soc.* 7, 167-175.
- SALTER RB. SIMMONDS DF. MALCOLM BW. RUMBLE EJ. McMICHAEL D. CLEMENTS ND. (1980). The biological

- effects of continuous passive motion on the healing of full thickness defects in articular cartilage. An experimental investigation in the rabbit. *J. Bone Joint Surg.* 62-A, 1232-1251.
- SAMPSON HW. & CANNON MS. (1986). Zonal analysis of metabolic profiles of articular-epiphyseal cartilage chondrocytes: a histochemical study. *Histochem. J.* 18, 233-238.
- SANDY JD. ADAMS ME. BILLINGHAM MEJ. PLAAS A. MUIR IHM. (1984). In vivo and in vitro stimulation of chondrocyte biosynthetic activity in early experimental osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 27, 388-397.
- SANDY JD. BROWN HLG. LOWTHER DA. (1978). Degradation of proteoglycan in articular cartilage. *Biochim. Biophys. Acta* 543, 536-544.
- SANDY JD. NEAME PJ. BOYNTON RE. FLANNERY CR. (1991). Catabolism of aggrecan in cartilage explants. Identification of a major cleavage site within the interglobular domain. *J. Biol. Chem.* 256, 8683-8685.
- SCHENK RK. EGGLI PS. HUNZIKER EB. (1986). Articular cartilage morphology. En *Articular Cartilage Biochemistry*. (Ed.: K.E. Kuettner, R. Schleyerbach & V.C. Hascall), pp. 3-22. New York: Raven Press.
- SCHERRER PK. HILLBERRY BM. Van SICLE DC. (1979). Determining in-vivo areas of contact in the canine shoulder. *J. Biomech. Eng.* 101, 271-278.
- SCHMID IM. LINSENMAYER TF. (1985). Immunohistochemical localization of short chain cartilage collagen (type X) in avian tissues. *J. Cell Biol.* 100, 598-605.
- SCHMID IM. LINSENMAYER TF. (1987). Type X collagen. En *Structure and function of collagen types*. (Ed.: R. Mayne & RE. Burgeson), pp. 223-259. New York: Academic Press.
- SCHMIDT G. ROBENEK H. HARRACH B. GLÖSSL J. NOLTE V. HORMANN H. RICHTER H. KRESSE H. (1987). Interaction of small dermatan sulfate proteoglycan from fibroblasts with fibronectin. *J. Cell Biol.* 104 (6), 1683-1691.
- SCHUMACHER HR. (1969). The microvasculature of the synovial membrane of the monkey: ultrastructural studies. *Arthritis Rheum.* 12, 387-404.
- SCHUR PH. SANDSON J. (1963). Immunologic studies of proteins of human synovial fluid. *Arthritis Rheum.* 6, 115-129.
- SCHWARZBAUER JE. PAUL JI. HYNES RO. (1985). On the origin of species of fibronectin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82 (5), 1424-1428.
- SCHWARTZ NB. RODEN L. (1975). Biosynthesis of chondroitin sulfate. Solubilization and chondroitin sulfate glycosyltransferases and partial purification of uridine diphosphate-D-galactose: D-xylose galactosyltransferase. *J. Biol. Chem.* 250 (13), 5200-5207.
- SCOTT DL. FARR M. CROCKSON AP. WALTON KW. (1982). Synovial fluid and plasma fibronectin levels in rheumatoid arthritis. *Clin. Sci.* 62, 71-76.
- SCOTT DL. WAINWRIGHT AC. WALTON KW. WILLIAMSON N. (1981a). Significance of fibronectin in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 40 (2), 142-153.

- SCOTT JE. ORFORD R. HUGHES EW. (1981b). Proteoglycan-collagen arrangements in developing rat tail tendon. *Biochem. J.* 195, 573-581.
- SCOTT JE. STOCKWELL RA. BALDUINI C. De LUCA G. (1989). Keratan sulphate: a functional substitute for chondroitin sulphate in O2 deficient tissues?. *Pathol. Biol.* 37 (6), 742-745.
- SCOTT PG. PEARSON CH. (1978). Cathepsin D- Cleavage of soluble collagen and cross-linked peptides. *FEBS lett.* 88, 41-47.
- SEPPALA PO. KARKKAINEN J. LEHTONEN A. MAKISARA P. (1972). Chondroitin sulphate in the normal and rheumatoid synovial fluid. *Clinica Chim. Acta* 36, 549-553.
- SERAFINI-FRACASSINI A. SMITH JW. (1974). *The Structure and Biochemistry of Cartilage*. Edinburgh: Churchill Livingstone.
- SHEPHERD GM. (1983). *Neurobiology*. Oxford: University Press, Inc.
- SHIOZAWA K. SHIOZAWA S. SHIMIZU S. FUJITA T. (1984). Fibronectin on the surface of articular cartilage in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 27 (6), 615-622.
- SHOWS TB. TIKKA L. BYERS MG. EDDY RL. HALEY LL. HENRY WM. PROCKOP DJ. TRYGGVASON K. (1989). Assignment of the human collagen $\alpha 1(\text{XIII})$ chain gene (COL13A1) to the q22 region of chromosome 10. *Genomics* 5 (1), 128-133.
- SILBERBERG R. SILBERBERG M. VOGEL A. WEMSTEIN W. (1961). Ultrastructure of articular cartilage of mice of various ages. *Am. J. Anat.* 109, 251-257.
- SILVER IA. (1975). Measurement of pH and ionic composition of pericellular sites. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B.* 271, 261-272.
- SIMKIN PA. NILSON KL. (1981). Trans-synovial exchange of large and small molecules. *Clin. Rheum. Dis.* 7, 99-130.
- SIMKIN PA. PIZZORO JE. (1974). Transsynovial exchange of small molecules in normal human subjects. *J. Appl. Physiol.* 36, 581-587.
- SIMON WH. (1971). Scale effects in animal joints. II. Thickness and elasticity in the deformability of articular cartilage. *Arthritis Rheum.* 14, 493-502.
- SLEDGE CB. (1989). Biology of the joint. En *Textbook of Rheumatology*, 3rd ed. (Eds.: WN. Kelley, ED. Harris, S. Ruddy, CB. Sledge), pp. 1-21. Philadelphia: Saunders.
- SLEDGE IA. DINGLE JT. (1965). Oxygen-induced resorption of cartilage in organ culture. *Nature* 205, 140-141.
- SLIWINSKI AF. ZVAIFLER NJ. (1969). The removal of aggregated and nonaggregated autologous gamma globulin from rheumatoid joints. *Arthritis Rheum.* 12, 504-514.
- SLOWMAN SD. BRANDT KD. (1986). Composition and glycosaminoglycan metabolism of articular cartilage from habitually loaded and habitually unloaded sites. *Arthritis Rheum.* 29 (1), 88-94.
- SMITH GN, Jr. HASTY KA. BRANDT KD. (-1989). Type XI collagen is associated with the chondrocyte surface in suspension culture. *Matrix* 9 (3), 186-192.
- SMITH GN, Jr. WILLIAMS JM. BRANDT KD. (1985). Interaction of proteoglycans with the pericellular ($1\alpha 2\alpha 3\alpha$) collagen

- cartilage. *J. Biol. Chem.* 260, 10761-10767.
- SMITH GN. JR. WILLIAMS JM. BRANDT KD. (1987). Effects of polyanions on fibrillogenesis by type XI collagen. *Collagen Relat. Res.* 7, 17-25.
- SMITH JE. CROWLEY GT. GILES RB. (1960). Some carbohydrates of synovial fluid. *Arthritis Rheum.* 3, 409-413.
- SOKOLOFF L. (1963). Elasticity of articular cartilage: effects of ions and viscous solutions. *Science* 141, 1055-1057.
- SOLONEN KA. (1966). The joints of the lower extremities of football players. *Ann. Chir. Gynaecol. Fenn.* 55, 176-180.
- SOLURSH M. VAEREWYCK SA. REITER RS. (1974). Depression by hyaluronic acid of glycosaminoglycan synthesis by cultured chick embryo chondrocytes. *Dev. Biol.* 41, 233-244.
- SOMMARIN Y. HEINEGÅRD D. (1986). Four classes of cell-associated proteoglycans in suspension cultures of articular cartilage chondrocytes. *Biochem. J.* 233, 809-818.
- SOOD SC. (1971). A study of the effects of experimental immobilization on rabbit articular cartilage. *J. Anat.* 108, 497-512.
- SOUDRY M. ZIVI. WEBBER TJ. MIZRAHI J. MAROUDAS A. (1986). Swelling, dimensional changes and instantaneous deformation of osteoarthritic knee cartilage. Citado por MIZRAHI y cols, 1986.
- SOUTHWICK WO. BENSCH KB. (1971). Phagocytosis of colloidal gold by cells of synovial membrane. *J. Bone Joint Surg.* 53-A, 729-741.
- SPERANZA ML. VALENTINIG. CALLIGARO A. (1987). Influence of fibronectin on the fibrillogenesis of type I and type III collagen. *Collagen Relat. Res.* 7, 115-123.
- STADLER H. KIENE M-L. (1987). Synaptic vesicles in electromotoneurons. II. Heterogeneity of populations is expressed in uptake properties; exocytosis and insertion of a core proteoglycan into the extracellular matrix. *EMBO J.* 6, 2217-2221.
- STANESCU V. STANESCU R. MAROTEAUX P. (1976). Réparation différente du collagène de type I et du collagène de type II dans la zone superficielle et dans la zone intermédiaire du cartilage articulaire. *C. R. Hebd. Seances Acad. Sci., Ser. D* 283, 279-282.
- STENMAN S. VAHERI A. (1978). Distribution of a major connective tissue protein, fibronectin, in normal human tissues. *J. Exp. Med* 147, 1054-1064.
- STEVENS JW. OIKE Y. HANDLEY C. HASCALL VC. HAMPTON A. CARTERSON B. (1984). Characteristics of the core protein of the aggregating proteoglycan from the Swarm rat chondrosarcoma. *J. Cell Biochem.* 26 (4), 247-260.
- STOCKWELL RA. (1967). The cell density of human articular and costal cartilage. *J. Anat.* 101, 753-763.
- STOCKWELL RA. (1970). Changes in the acid glycosaminoglycan content of the matrix of ageing human articular cartilage. *Ann. Rheum. Dis.* 29, 509-515.
- STOCKWELL RA. (1971). The interrelationship of cell density and cartilage thickness

- in mammalian articular cartilage. *J. Anat.* 109, 411-421.
- STOCKWELL RA. (1979). Biology of Cartilage Cells. En *Biological Structure and Function*, part. 7 (Eds.: RJ. Harrison & RMH. McMinn), pp. 230-253. London: Cambridge University Press.
- STOCKWELL RA. (1983). Metabolism in cartilage. En *Cartilage*, vol. I (Ed.: BK. Hall), pp. 253-280. New York: Academic Press.
- STOCKWELL RA. SCOTT JE. (1967). Distribution of acid glycosaminoglycans in human articular cartilage. *Nature* 215, 1376-1378.
- STOFF E. GRAF J. (1983). Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen des hyalinen Gelenkknorpels. *Acta Anat.* 116, 114-125.
- STOUGARD J. (1976). The calcified cartilage and subchondral bone under normal and abnormal conditions. *Acta Pathol Microbiol. Scand. (A)* 82, 182.
- STRAWICHE. NIMNI ME. (1971). Properties of a collagen molecule containing three identical components extracted from bovine articular cartilage. *Biochemistry* 10, 3905-3911.
- STULBERG SD. KELLER CS. (1984). Exercise and osteoarthritis. En *Osteoarthritis-Diagnosis and Management*. Ed.: RW Moscovitz, DS Howell, VM Goldberg, HJ Mankin. Philadelphia. Saunders.
- SUNDBLAD L. (1953). Studies on hyaluronic acid in synovial fluids. *Acta Soc. Med. Upsaliensis* 58, 113-283.
- SUNDBLAD L. JONSSON E. NETTELBLADT E. (1961). Permeability of the synovial membrane to glycoproteins. *Nature* 192, 1192-1199.
- SUZUKI S. ARGRAVES WS. ARAI H. LANGUINO LR. PIERSCHBACHER MD. RUOSLAHTI E. (1987). Amino acid sequence of the vitronectin receptor alpha subunit and comparative expression of adhesion receptor mRNAs. *J. Biol. Chem.* 262 (29), 14080-14085.
- SUZUKI S. OLDBERG A. HAYMAN EG. PIERSCHBACHER MD. RUOSLAHTI E. (1985). Complete amino acid sequence of human vitronectin deduced from cDNA. Similarity of cell attachment sites in vitronectin and fibronectin. *EMBO J.* 4, 2519-2524.
- SUZUKI S. PIERSCHBACHER MD. HAYMAN EG. NGUYEN K. ÖHGREN Y. RUOSLAHTI E. (1984). Domain structure of vitronectin. *J. Biol. Chem.* 259, 15307-15314.
- SVOBODA KK. NISHIMURA I. SUGRUE SP. NINOMIYA Y. OLSEN BR. (1988). Embryonic chicken cornea and cartilage synthesize type II collagen molecules with different amino-terminal domains. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85 (20), 7496-7500.
- SWANND A. (1981). The lubricating activity of synovial fluid of glycoproteins. *Arthritis Rheum.* 24, 22-30.
- SWEET MBE. THONAR EJ-MA. IMMELMAN AR. (1977a). Regional distribution of water and glycosaminoglycan in immature articular cartilage. *Bochim. Biophys. Acta* 500, 173-186.
- SWEET MBE. THONAR EJ-MA. IMMELMAN AR. SOLOMAN L. (1977b). Biochemical changes in progressive osteoarthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 36, 387-398.
- TAKABATAKE K. YAMAMOTO T. (1991). Morphology of the synovium during its differentiation and development in the

- mouse knee joint. A histochemical, SEM and TEM study. *Anat. Embriol.* 183, 537-544.
- TAMKUN JW. DeSIMONE DW. FONDA D. PATEL RS. BUCK C. HORWITZ AF. HYNES RO. (1986). Structure of integrin, a glycoprotein involved in the transmembrane linkage between fibronectin and actin. *Cell* 46(2), 271-282.
- TAMMI M. KIVIRANTA I. PELTONEN L. JUKKA J. HELMINEN HJ. (1988). Effects of joint loading on articular cartilage collagen metabolism: assay of procollagen prolyl 4-hydroxylase and galactosylhydroxylsylglucosyltransferase. *Connect. Tissue Res.* 17, 199-206.
- TAMMIM. SÄÄMÄNEN AM. JAUHAINEN A. MALMINEN O. KIVIRANTA I. HELMINEN HJ. (1983). Proteoglycan alterations in rabbit knee articular cartilage following physical exercise and immobilization. *Connect. Tissue Res.* 11(1), 45-55.
- TAYLOR AE. GRANGER DN. (1984). Exchange of macromolecules across the microcirculation. En *Handbook of Physiology*. vol. 4. The Cardiovascular System. Circulation. (Ed.: E.M. Renkin), pp. 467-520. Bethesda, MD, American Physiological Society.
- TESHINA R. TREADWELL BV. TRHAN CA. MANKIN HJ. (1983). Comparative rates of proteoglycan synthesis and size of proteoglycans in normal and osteoarthritic chondrocytes. *Arthritis Rheum.* 26, 1225-1230.
- THAXTER TH. MANN RA. ANDERSON CE. (1965). Degeneration of immobilized knee joints in rats. *J. Bone Joint Surg.* 47-A, 567-585.
- THOMAS JT. GRANT ME. (1988). Cartilage proteoglycan aggregate and fibronectin can modulate the expression of type X collagen by embryonic chick chondrocytes cultured in collagen gels. *Biosci. Rep.* 8 (2), 162-171.
- THONAR EJ. BUCKWALTER JA. KUETTNER KE. (1986). Maturation related differences in the structure and composition of proteoglycans synthesized by chondrocytes from bovine articular cartilage. *J. Biol. Chem.* 261, 2467-2474.
- THONAR EJ. SWEET MBE. (1979). An oligosaccharide component in proteoglycans of articular cartilage. *Biochem. Biophys. Acta* 584, 353-357.
- THONAR EJ. SWEET MBE. IMMELMAN AR. LYONS G. (1978). Hyaluronate in articular cartilage: age-related changes. *Calcif. Tissue Res.* 26, 19-22.
- TIKU ML. LIESCH JB. ROBERTSON FM. (1990). Production of hydrogen peroxide by rabbit articular chondrocytes. Enhancement by cytokines. *J. Immunol.* 145 (2), 690-696.
- TIMPL R. ENGEL J. (1987). Type VI collagen. En *Structure and Function of Collagen Types*. (Ed.: R. Mayne & RE. Burgeson), pp. 105-144. New York: Academic Press.
- TKACZUK H. (1986). Human cartilage stiffness. In vivo studies. *Clin. Orthop* 206, 301-312.
- TORCHIA DA. HASSON MA. HASCALL VC. (1983). ¹³C nuclear magnetic resonance suggests a flexible proteoglycan core protein. *J. Biol. Chem.* 256, 7129-7138.
- TORZILLI PA. MOW VC. (1976). On the fundamental fluid transport mechanisms

- trough normal and pathological articular cartilage during function. II. The analysis, solution and conclusions. *J. Biomech.* 9, 587-606.
- TRAVIS J. SALVESEN GS. (1983). Human plasma proteinase inhibitor. *Annu. Rev. Biochem.* 52, 655-709.
- TREADWELL BV. MANKIN HJ. (1986). The synthetic processes of articular cartilage. *Clin. Orthop.* 213, 50-61.
- TRESLTAD RL. HAYASHI K. (1979). Tendon collagen fibrillogenesis: intracellular subassemblies and cell surface changes associated with fibril growth. *Dev. Biol.* 71, 228-242.
- TRELSTAD RL. KANG AH. IGARASHI S. GROSS J. (1970). Isolation of two distinct collagens from chick cartilage. *Biochemistry* 9, 4993-4998.
- TRELSTAD RL. KANG AH. TOOLE BP. GROSS J. (1972). Collagen heterogeneity. High resolution separation of native $[\alpha 1(\text{II})]_2\alpha 2$ and $[\alpha 1(\text{II})]_3$ and their component α chain. *J. Biol. Chem.* 247, 6469-6473.
- TROEN BR. ASCHERMAN D. ATLAS D. GOTTESMAN MM. (1988). Cloning and expression of the gene for the major excreted protein of transformed mouse fibroblasts. A secreted lysosomal protease regulated by transformation. *J. Biol. Chem.* 263 (1), 254-261.
- TROYER H. (1975). The effect of short-term immobilization on the rabbit knee joint cartilage. *Clin. Orthop. Rel. Res.* 107, 249-257.
- TS'AO C-H. EISENSTEIN R. (1981). Attachment of proteoglycans to collagen fibrils. *Lab. Invest.* 45, 450-455.
- TSIPOURAS P. SCHWARTZ RC. LIDDELL AC. SALKELD CD. WEIL D. RAMÍREZ F. (1988). Genetic distance of two fibrillar collagen loci, COL3A1 and COL5A2, located on the long arm of human chromosome 2. *Genomics* 3 (3), 275-277.
- UITTO J. (1977). Biosynthesis of type II collagen. Removal of amino- and carboxy-terminal extensions from procollagen synthesized by chick embryo cartilage cells. *Biochemistry* 16, 3421-3429.
- UITTO J. ALLAN RE. POLAK KL. (1979). Conversion of type II procollagen to collagen. Extracellular removal of the amino-terminal and carboxy-terminal extensions without a preferential sequence. *Eur. J. Biochem.* 99, 97-103.
- UITTO J. HOFFMAN HP. PROCKOP DJ. (1977). Purification and partial characterization of the type II procollagen synthesized by embryonic cartilage cells. *Arch. Biochem. Biophys.* 179, 654-662.
- UITTO J. PROCKOP DJ. (1974). Biosynthesis of cartilage procollagen. Influence of chain association and hydroxylation of prolyl residues on the folding of the polypeptides into the triple-helical conformation. *Biochemistry* 13, 4586-4591.
- UNSWORTH A. DOWSON D. WRIGHT V. (1971). "Cracking joints". A bioengineering study of cavitation in the metacarpophalangeal joint. *Ann. Rheum. Dis.* 30 (4), 348-358.
- URBAN JPG. MAROUDAS A. BAYLISS MT. DILLON J. (1979). Swelling pressures of proteoglycans at the concentrations found in cartilaginous tissues. *Biorheology* 16, 447-464.
- VALENTINE JW. (1978). The evolution of multicellular plants and animals. *Sci. Am.* 239 (3), 140-153.

- VALLI M. LEONARDI L. STROCCHI R. TENNI R. GUIZZARDI S. RUGGERI A. BALDUINI C. (1986). "In vitro" fibril formation of type I collagen from different sources: biochemical and morphological aspects. *Connect. Tissue Res.* 15 (4), 235-244.
- Van DAMME J. CAYPHAS S. Van SNICK J. CONINGS R. PUT W. LENAERTS JP. SIMPSON RJ. BILLIAU A. (1987). Purification and characterization of human fibroblast-derived hybridoma growth factor identical to T-cell-derived B-cell stimulatory factor-2 (interleukin-6). *Eur. J. Biochem.*, 168 (3), 543-550.
- van der REST M. MAYNE R. (1987). Type IX collagen. En *Structure and Function of Collagen Types*. (Ed.: R. Mayne & R. Burgeson), pp. 195-222. New York: Academic Press.
- van der REST M. MAYNE R. (1988). Type IX collagen proteoglycan from cartilage is covalently cross-linked to type II collagen. *J. Biol. Chem.* 263 (4), 1615-1618.
- van der REST M. MAYNE R. NINOMIYA Y. SEIDAH NG. CHRETIEN M. OLSEN BR. (1985). The structure of type IX collagen. *J. Biol. Chem.* 260 (1), 220-225.
- VARNER HH. HORN VJ. MARTIN GR. HEWITT AT. (1986). Chondronectin interactions with proteoglycan. *Arch. Biochem. Biophys.* 244 (2), 824-830.
- VARTIO T. LAITINEN L. NARVANEN O. CUTOLO M. THORNELL L. ZARDI L. VIRTANEN I. (1987). Differential expression of the ED sequence-containing form of cellular fibronectin in embryonic and adult human tissues. *J. Cell. Sci.* 88, 419-430.
- VASANN. (1980). Proteoglycans in normal and severely osteoarthritic human cartilage. *Biochem. J.* 187, 781-787.
- VASAN N. (1983). Effects of physical stress on the synthesis and degradation of cartilage matrix. *Connect. Tissue Res.* 12 (1), 49-58.
- VASIOS G. NISHIMURA I. KONOMI H. van der REST M. NINOMIYA Y. OLSEN BR. (1988). Cartilage type IX collagen-proteoglycan contains a large amino-terminal globular domain encoded by multiple exons. *J. Biol. Chem.* 263 (5), 2324-2329.
- VAUGHAN L. HUBER S. CHIQUET M. WINTERHALTER KH. (1987). A major six-armed glycoprotein from embryonic cartilage. *EMBO J.* 6 (2), 349-353.
- VAUGHAN L. MENDLER H. HUBER S. BRUCKNER P. WINTERHALTER KH. IRWIN MI. MAYNE R. (1988). D-periods distribution of collagen type IX along cartilage fibrils. *J. Cell Biol.* 106 (3), 991-997.
- VELLET AD. MARKS PH. FOWLER PJ. MURUO TG. (1991). Occult posttraumatic osteochondral lesions of the knee: prevalence, classification, and short-term sequelae evaluated with MR imaging. *Radiology.* 178, 271-276.
- VENN MF. (1978). Variation of chemical composition with age in human femoral head cartilage. *Ann. Rheum. Dis.* 37, 168-174.
- VENN MF. (1979). Chemical composition of human femoral head cartilage: influence of topographical position and fibrillation. *Ann. Rheum. Dis.* 38, 57-62.
- VENN MF. MAROUDAS A. (1977). Chemical composition and swelling of normal and osteoarthrotic femoral head cartilage. I.

- Chemical composition. *Ann. Rheum. Dis.* 36, 121-129.
- VIDEMAN T (1982a). Experimental osteoarthritis in the rabbit. *Acta Orthop. Scand.* 53, 339-347.
- VIDEMAN T (1982b). The effect of running on the osteoarthritic joint: An experimental matched-pair study with rabbits. *Rheumatol. Rehab.* 21, 1-8.
- VIDEMAN T. ERONEN I. (1984). Effects of treadmill running on glycosaminoglycans in articular cartilage of rabbits. *Int. J. Sports Med.* 5 (6), 320-324.
- VIDEMAN T. ERONEN I. CANDOLIN T. (1981). [³H] Proline incorporation and hydroxyproline concentration in articular cartilage during the development of osteoarthritis caused by immobilization. *Biochem. J.* 200, 435-440.
- VIGNON E. ARLLOT M. PATRICOT LM. VIGNON G. (1976). The cell density of human femoral head cartilage. *Clin. Orthop.* 121., 303-308.
- VIGNON E. ARLLOT M. HARTMAN D. MOYEN B. VILLE G. (1983). Hypertrophic repair of articular cartilage in experimental osteoarthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 42, 82-88.
- VIGNON E. GATEAU O. MARTIN A. HARTMAN D. BEJUI J. BIOL J. VANIER MT. LOUISOT P. RICHARD M. (1987). Screening of degradative enzymes from articular cartilage in experimental osteoarthritis. *Clin. Rheumatol.* 6, 208-214.
- VINCELETTE R. LAURIN CA. LEVESQUE HP. (1972). The footballer's ankle and foot. *Can. Med. Assoc.* 107, 873-877.
- VINGARD E. SANDMARK H. ALFREDSSON L. (1995). Musculoskeletal disorders in former athletes: a cohort study in 114 track and field champions. *Acta Orthop. Scand.* 66, 289-291.
- VIRKA GD. SALVESEN GS. TRAVIS J. (1983). Human neutrophil elastase and cathepsin G cleavage sites in the bait region of α 2-macroglobulin. Proposed structural limits of the bait region. *Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem.* 364 (9), 1297-1302.
- VOGEL KG. TROTTER JA. (1987). The effect of proteoglycans on the morphology of collagen fibrils formed in vitro. *Collagen Relat. Res.* 7, 105-114.
- VOGEL KG. PAULSSON M. HEINEGÅRD D. (1984). Specific inhibition of type I and type II collagen fibrillogenesis by the small proteoglycan of tendon. *Biochem. J.* 223, 587-597.
- von der MARK H. AUMAILLEY M. WICK G. FLEISCHMAJER R. TIMPL R. (1984). Immunochemistry, genuine size and tissue localization of collagen VI. *Eur. J. Biochem.* 142, 493-502.
- von der MARK K. KIRSCH T. AIGNER T. REICHENBERGER E. NERLICH A. WESELOH G. STÖB H. (1992a). The fate of chondrocytes in osteoarthritic cartilage. Regeneration, dedifferentiation, or hypertrophy?. En *Articular cartilage and osteoarthritis*. (Ed.: K. Kuettner, R. Schleyerbach, JG. Peyron & V. Hascall), pp. 221-234. New York: Raven Press.
- von der MARK K. KIRSCH T. NERLICH AG. KUB A. WESELOH G. GLÜCKERT K. STÖB H. (1992b). Type X collagen synthesis in human osteoarthritic cartilage: indication of chondrocyte hypertrophy. *Arthritis Rheum.* 35, 806-811.

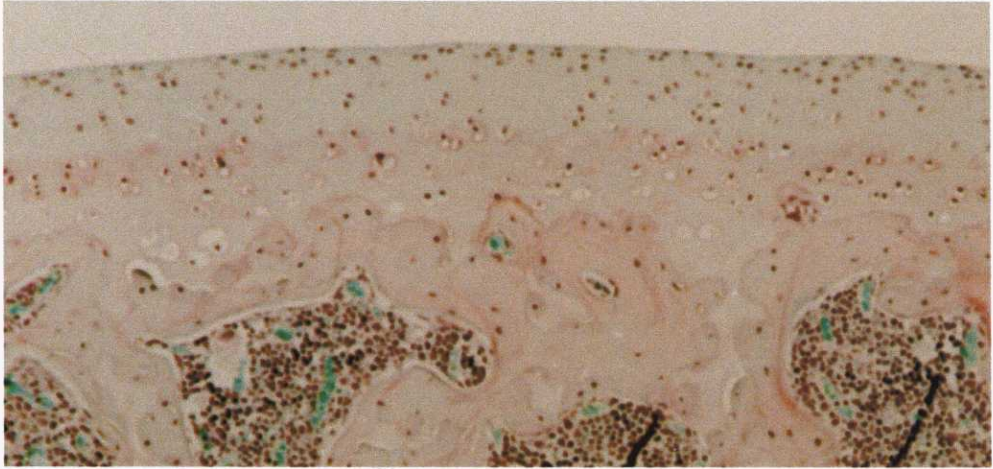
- VUENTO M. VAHERIA A. (1979). Purification of fibronectin from human plasma by affinity chromatography under non-denaturing conditions. *Biochem. J.* 183 (2), 331-337.
- VUENTO M. WRANN M. RUOSLATHI E. (1977). Similarity of fibronectins isolated from human plasma and spent fibroblast culture medium. *FEBS Lett.* 82 (2), 227-231.
- VUORIO E. de CROMBRUGGHE B. (1990). The family of collagen genes. *Annu. Rev. Biochem.* 59, 837-872.
- WALKER PS. SIKORSKI J. DOWSON D. LONGFIELD MD. WRIGHT V. BUCKLEY T. (1969). Behaviour of synovial fluid on surfaces of articular cartilage. A scanning electron microscope study. *Ann. Rheum. Dis.* 28, 1-14.
- WALLIS WJ. SIMKIN PA. NELP WB. FOSTER DM. (1985). Intraarticular volume and clearance in human synovial effusions. *Arthritis Rheum.* 28 (4), 441-449.
- WARD NP. HULMES DJS. CHAPMAN JA. (1986). Collagen self-assembly in vitro: electron microscopy of initial aggregates formed during the log phase. *J. Med. Biol.* 190, 107-112.
- WATANABE H. SPYCHER MA. RUTTNER JR. (1974). Ultrastructural study of the normal rabbit synovium. *Pathol. Microbiol.* 41, 283-292.
- WATTON SF. DUANCE VC. FRYER PR. (1988). Type IX collagen: a possible function in articular cartilage. *FEBS Lett.* 234 (1), 79-82.
- WEIGHTMAN B. (1976). Tensile fatigue of human articular cartilage. *J. Biomech.* 9, 193-200.
- WEIL D. MATTEI MG. PASSAGE E. NGUYEN VC. PRIBULA-CONWAY D. MANN K. DEUTZMANN R. TIMPL R. CHU ML. (1988). Cloning and chromosomal localization of human genes encoding the three chains of type VI collagen. *Am. J. Hum. Genet.* 42 (3), 435-445.
- WEINBERGER A. SIMKIN PA. (1989). Plasma proteins in synovial fluids of normal human joints. *Semin. Arthritis Rheum.* 19 (1), 66-76.
- WEISS C. ROSENBERG L. HELFET AJ. (1968). An ultrastructural study of normal young adult human cartilage. *J. Bone Joint Surg.* 50-A, 663-674.
- WEISS RE. REDDIAH. (1981). Appearance of fibronectin during the differentiation of cartilage, bone, and bone marrow. *J. Cell Biol.* 88, 630-636.
- WERB Z. (1989). Proteinases and matrix degradation. En *Textbook of Rheumatology*. (Ed.: W.N. Kelley, E.D. Harris, S. Ruddy & C.B. Sledge), pp. 300-321. Philadelphia: W.B. Saunders.
- WERB Z. REYNOLDS JJ. (1985). Rabbit collagenase. Immunological identity of the enzymes released from cells and tissues in normal and pathological conditions. *Biochem. J.* 151 (3), 665-669.
- WEST CM. LANZA R. ROSENBLOOM J. LOWE M. HOLTZER H. AVDALOVIC N. (1979). Fibronectin alters the phenotypic properties of cultures chick embryo chondroblasts. *Cell* 17, 491-501.
- WIEBKIN OW. MUIR IHM. (1975). Influence of the cells on the pericellular environment. The effect of hyaluronic acid on proteoglycan synthesis and secretion by chondrocyte of adult cartilage. *Philos.*

- Trans. R. Soc. Lon. [Biol]* 271 (912), 283-291.
- WILKINSON LS. EDWARDS JCW. (1989). Microvascular distribution in normal human synovium. *J. Anat.* 167, 129-136.
- WILLIAMS C. JIMENEZ SA. (1995). Molecular biology of heritable cartilage disorders. En *Osteoarthritic disorders*. (Ed.: KE. Kuetner & VM. Goldberg), pp. 35-50. Rosemont, Illinois: American Academy of Orthopaedic Surgeons.
- WILLIAMS JM. BRANDT KD. (1984a). Exercise increases osteophyte formation and diminishes fibrillation following chemically induced articular cartilage injury. *J. Anat* 139, 599-611.
- WILLIAMS JM. BRANDT KD. (1984b). Immobilization ameliorates chemically induced articular cartilage damage. *Arthritis Rheum.* 27, 208-216.
- WILLIAMS JM. MORAN M. THONAR EJ. SALTER RB. (1994). Continuous passive motion stimulates repair of rabbit knee articular cartilage after matrix proteoglycan loss. *Clin. Orthop.* 304, 252-262.
- WILSMAN NJ. (1978). Cilia of adult canine articular chondrocytes. *J. Ultrastruc. Res.* 64, 270-281
- WILSMAN NJ. FARNUM CE. REED-AKSA-MIT DK. (1981). Caveolar system of the articular chondrocyte. *J. Ultrastruc. Res.* 74, 1-10.
- WOESSNER JF. (1991). Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. *FASEB J.* 5, 2145-2154.
- WOOD DD. IHRIE EJ. DINARELLO CA. COHEN PL. (1983). Isolation of an interleukin 1-like factor from human joint effusions. *Arthritis Rheum.* 26, 975-983.
- WOODS A. COUCHMAN JR. JOHANSSON S. HÖÖK M. (1986). Adhesion and cytoskeletal organization of fibroblasts in response to fibronectin fragments. *EMBO J.* 5 (4), 665-670.
- WU JJ. LARK MW. CHUN LE. EYRE DR. (1991). Sites of stromelysin cleavage in collagen types II, IX, X and XI of cartilage. *J. Biol. Chem.* 266, 5625-5628.
- WURSTER NB. LUST G. (1982). Fibronectin in osteoarthritic canine articular cartilage. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 109, 1094-1101.
- WURSTER NB. LUST G. (1984). Synthesis of fibronectin in normal and osteoarthritic articular cartilage. *Biochim. Biophys. Acta.* 800, 52-58.
- WURSTER NB. LUST G. (1986). Incorporation of purified fibronectin into explants of articular cartilage from disease-free and osteoarthritic canine joints. *J. Orthop. Res.* 4, 409-419.
- YAMADA H. NAKAGAWA T. STEPHENS RW. NAGAI Y. (1987). Proteinases and their inhibitors in normal and osteoarthritic articular cartilage. *Biomed. Res.* 8 (5), 289-300.
- YAMADA H. STEPHENS RW. NAKAGAWA T. McNICOL D. (1988). Human articular cartilage contains an inhibitor of plasminogen activator. *J. Rheumatol.* 15 (7), 1138-1143.
- YAMADA KM. WESTON JA. (1974). Isolation of a major cell surface glycoprotein from fibroblasts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 71 (9), 3492-3496.
- YANG GCH. BIRK DE. (1988). Topographies of extracytoplasmatic compartments in developing chick tendon fibroblasts. *J.*

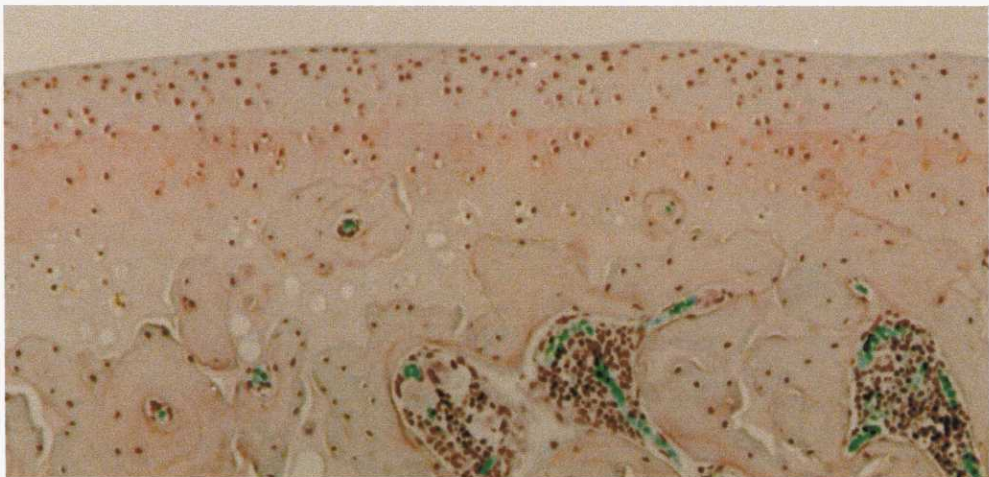
- Ultrastruc. Mol. Struct. Res.* 97, 238-248.
- YASUI N. BENYA PD. NIMNI ME. (1984). Identification of a large interrupted helical domain of disulfide-bonded cartilage collagen. *J. Biol. Chem.* 259, 14175-14179.
- YIELDING KL. TOMKINS GM. BUNIM JJ. (1957). Synthesis of hyaluronic acid by human synovial tissue slices. *Science* 125, 1300-1308.
- YOSHIDA K. AZUMA H. (1982). Contents and compositions of glycosaminoglycans in different sites of the human hip joint cartilage. *Ann. Rheum. Dis.* 41, 512-519.
- YOUNG RW. (1973). The role of the Golgi complex in sulfate metabolism. *J. Cell Biol.* 57 (1), 175-189.
- ZAMBRANO NJ. MONTES GS. SHIGIHARA KM. SANCHEZ EM. JUNQUEIRA LCU. (1982). Collagen arrangement in cartilages. *Acta Anat.* 113, 26-38.
- ZARDI L. CARNEMOLLA B. SIRI A. PETERSEN TE. PAOLELLA G. SEBASTIO G. BARALLE FE. (1987). Transformed human cells produce a new fibronectin isoform by preferential alternative splicing of a previously unobserved exon. *EMBO J.* 6 (8), 2337-2342.
- ZAREK JM. EDWARDS J. (1964). Dynamic considerations of the human skeletal system. En *Biomechanics and Related Bio-Engineering Topics*. (Ed.: RM. Kenedy), pp. 187-293. Oxford: Pergamon.
- ZIMMERMAN NB. SMITH DG. POTTENGER LA. COOPERMAN DR. (1988). Mechanical disruption of human patellar cartilage by repetitive loading in vitro. *Clin. Orthop.* 229, 302-307.
-

Anexo I.- Iconografía

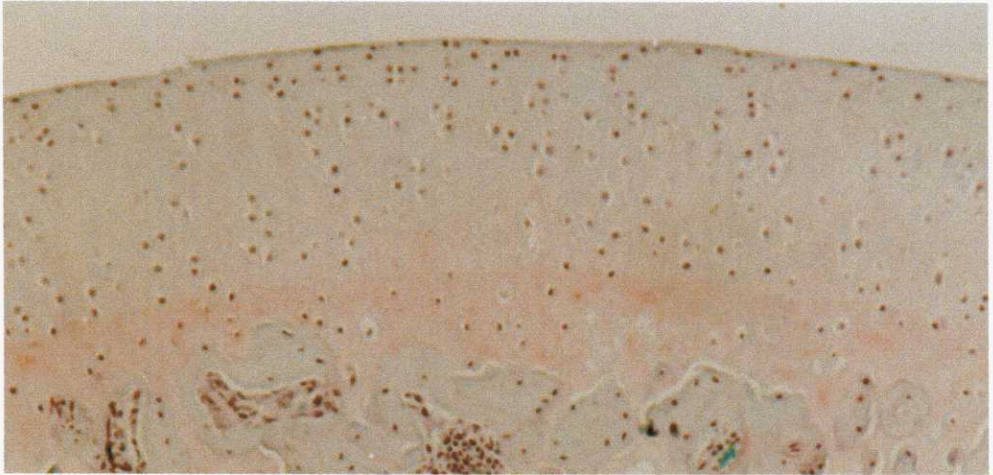
Grupo control



Fotografía 1.- Microfotografía de un corte perpendicular a la superficie del cartílago articular del cóndilo femoral interno de un animal del grupo **control**: visión panorámica de la **región 1** o región de menor carga anterior. (MO; 8,3x; HFS)



Fotografía 2.- Microfotografía de un corte perpendicular a la superficie del cartílago articular del cóndilo femoral interno de un animal del grupo **control**: visión panorámica de la **región 2** o región de carga intermedia. (MO; 8,3 x; HFS)



Fotografía 3.- Microfotografía de un corte perpendicular a la superficie del cartilago articular del cóndilo femoral interno de un animal del grupo *control*: visión panorámica de la *región 3* o región de máxima carga. (MO; 8,3x; HFS)

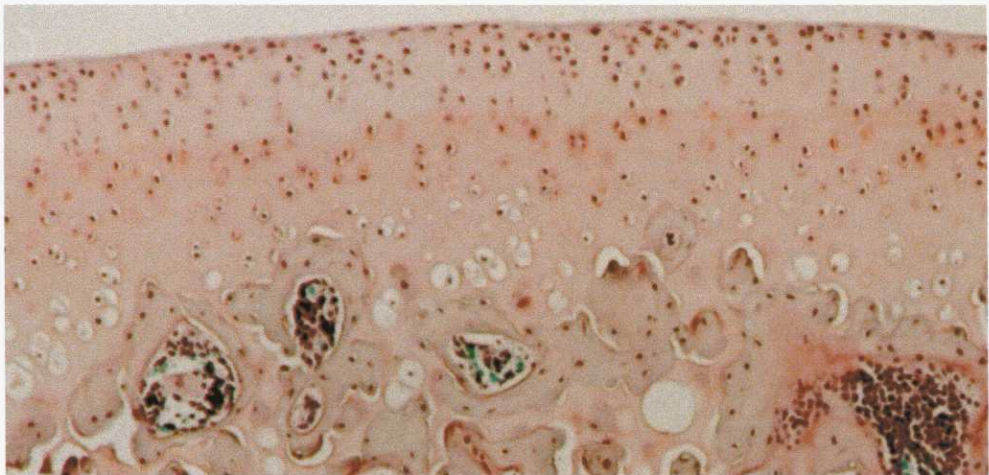


Fotografía 4.- Microfotografía de un corte perpendicular a la superficie del cartilago articular del cóndilo femoral interno de un animal del grupo *control*: visión panorámica de la *región 4* o región de menor carga posterior. (MO; 8,3x; HFS)

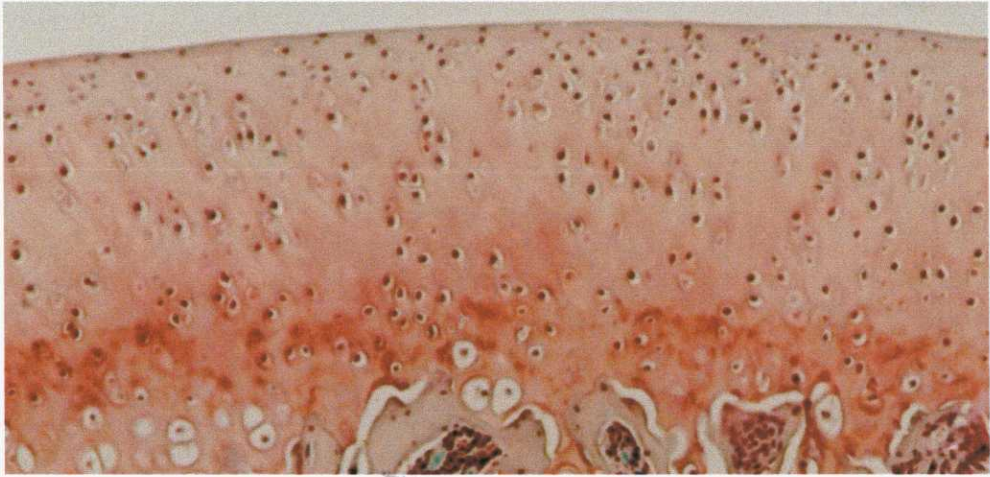
Grupo entrenado



Fotografía 5.- Microfotografía de un corte perpendicular a la superficie del cartilago articular del cóndilo femoral interno de un animal del grupo **entrenado**: visión panorámica de la **región 1** o región de menor carga anterior. (MO; 8,3x; HFS)



Fotografía 6.- Microfotografía de un corte perpendicular a la superficie del cartilago articular del cóndilo femoral interno de un animal del grupo **entrenado**: visión panorámica de la **región 2** o región de carga intermedia. (MO; 8,3x; HFS)



Fotografía 7.- Microfotografía de un corte perpendicular a la superficie del cartilago articular del cóndilo femoral interno de un animal del grupo *entrenado*: visión panorámica de la *región 3* o región de máxima carga. (MO; 8,3x; HFS)



Fotografía 8.- Microfotografía de un corte perpendicular a la superficie del cartilago articular del cóndilo femoral interno de un animal del grupo *entrenado*: visión panorámica de la *región 4* o región de menor carga posterior. (MO; 8,3x; HFS)



Detalles morfológicos

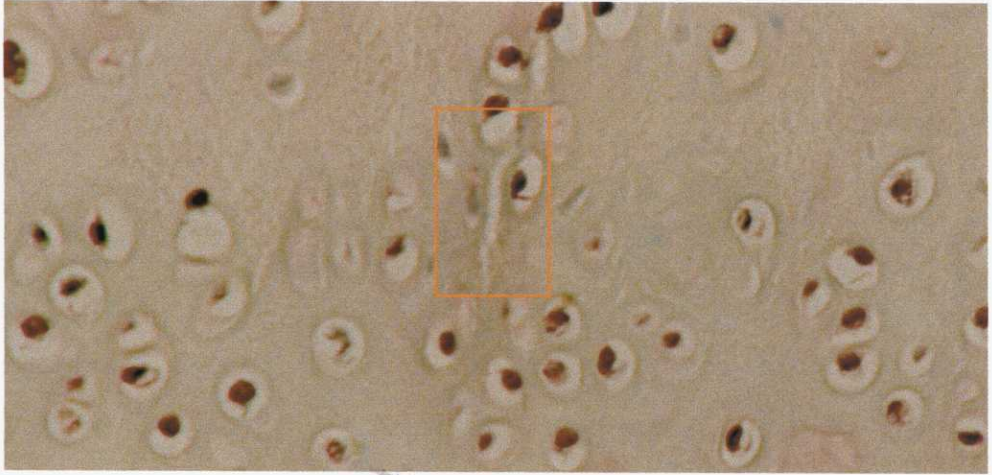




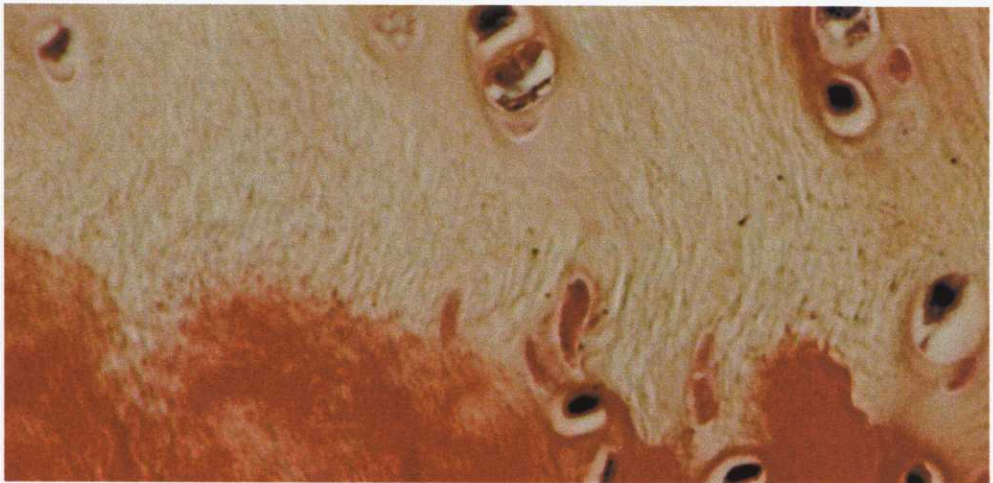
Fotografía 9.- Microfotografía de un corte perpendicular a la superficie del cartilago articular del cóndilo femoral interno del animal 10, correspondiente al grupo *entrenado*: visión panorámica de la *región 2* o región de carga usual anterior. En ella se observa la alternancia de espacios sin presencia celular con otros de aspecto normal (MO; 8,3x; HFS)



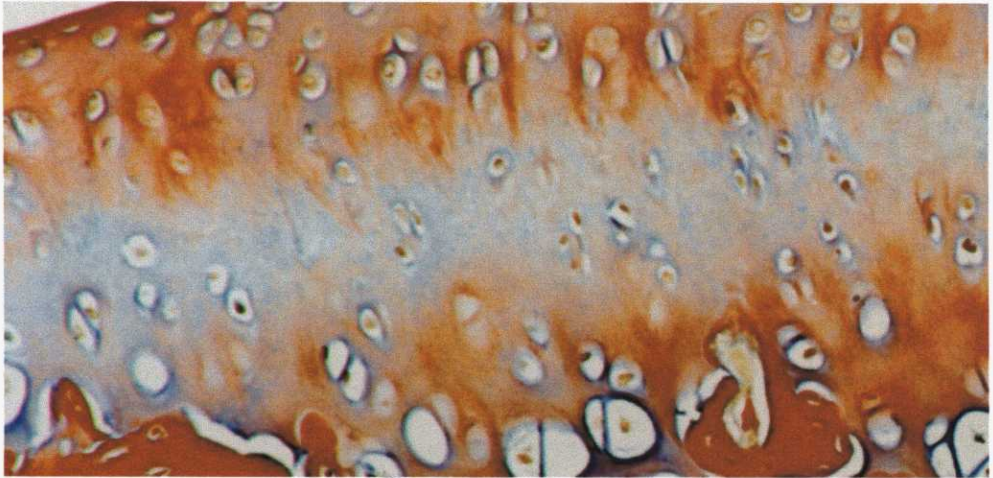
Fotografía 10.- Microfotografía de un corte perpendicular a la superficie del cartilago articular del cóndilo femoral interno del animal 7, correspondiente al grupo *entrenado*: visión panorámica de la *región 3* o de máxima carga. En ella puede observarse el abultamiento existente entre las regiones 3 y 4 (MO; 8,3x; HFS)



Fotografía 11.- Microfotografía de un corte perpendicular a la superficie del cartilago articular del cóndilo femoral interno del animal 8, correspondiente al grupo *entrenado*: detalle de la *región 3* o de máxima carga. Se observan grietas o dehiscencias perpendiculares a la superficie en la zona III (MO; 26x; HFS)



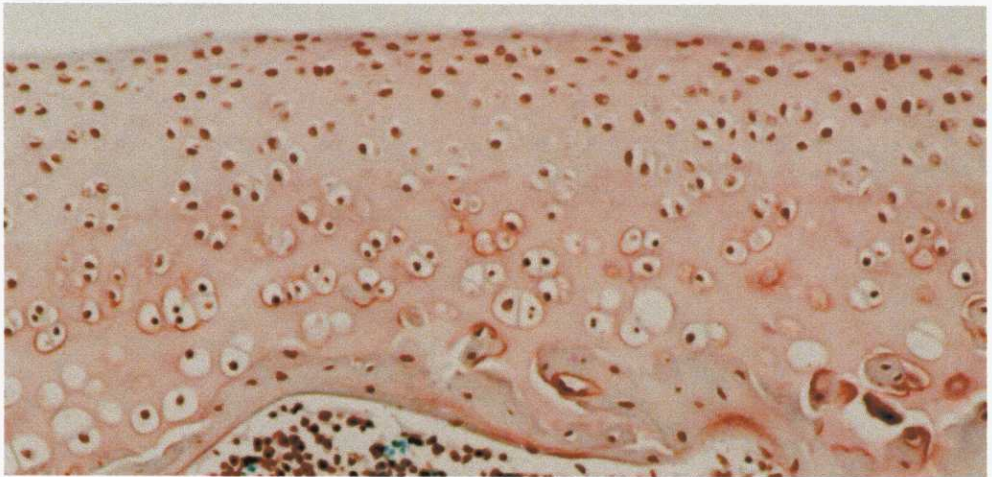
Fotografía 12.- Microfotografía de un corte perpendicular a la superficie del cartilago articular del cóndilo femoral interno del animal 7, correspondiente al grupo *entrenado*: detalle de la *región 3* o de máxima carga. Se observa la pérdida de apetencia por la SO, lo que hace más visibles las fibras de colágeno de aspecto ondulado y la aparición de espacios de muerte celular (MO; 26x; HFS)



Fotografía 13.- Microfotografía de un corte perpendicular a la superficie del cartílago articular del cóndilo femoral interno del animal 8, correspondiente al grupo *entrenado*: detalle de la *región 3* o de máxima carga. Se aprecia deplección de PG y muerte celular; las fibras de colágeno muestran apatencia por el APA; en general, toda la región es de aspecto friable (MO; 20,x; HEA)



Fotografía 14.- Microfotografía de un corte perpendicular a la superficie del cartílago articular del cóndilo femoral interno del animal 7 correspondiente al grupo *entrenado*: detalle de la *región 1* o de menor carga anterior. El cartílago epifisario es de mayor grosor que en los controles y llama la atención la disposición de las células en hileras paralelas a la superficie (MO; 20x; HFS)



Fotografía 15.- Microfotografía de un corte perpendicular a la superficie del cartílago articular del cóndilo femoral interno del animal 11, correspondiente al grupo *entrenado*: detalle de la *región 1* o de menor carga anterior. No es posible la discriminación en zonas, las células incrementan su tamaño de superficie a profundidad y se observa una gran actividad proliferativa (MO; 20x; HFS)

Anexo II.- Abreviaturas

Abreviaturas

AH: Ácido Hialurónico.

AP: Azul de Picroanilina.

CDGF: "*Cartilage-Derived Growth Factor*", factor de crecimiento derivado del cartilago.

CGRP: "*Calcitonin Gene-Related Peptide*", péptido relacionado con el gen de la calcitonina.

CSPG: "*Cartilage Specific Proteoglycan*", proteoglicano

EB: Escarlata de Biebrich.

FACIT: "*Fibril Associated Collagens with Interrupted Triple-helice*", Colágenos asociados a fibras con hélices triples interrumpidas.

EEM: Error Estándar de las Medias.

FG: Fast Green.

GAG: Glucosaminoglucano.

HABR: "*Hyaluronic Acid Binding Region*", Región de unión al ácido hialurónico.

HEA: Hematoxilina Férrica de Weigert-Escarlata de Biebrich-Azul de Picroanilina.

HF: Hematoxilina Férrica de Weigert.

HFS: Hematoxilina Férrica de Weigert-Fast Green-Safranina O.

IGF-1: "*Insulin Growth Factor-1*", factor de crecimiento insulínico.

IL-1: Interleucina-1.

IL-6: Interleucina-6.

MET: Microscopio Electrónico de Transmisión.

MEB: Microscopio Electrónico de Barrido.

MIT: Matriz Interterritorial.

MO: Microscopio Óptico.

MPc: Matriz Pericelular.

MT: Matriz Territorial.

ODFR: "*Oxygen Derived Free Radicals*", radicales libres derivados de oxígeno.

PAS: "*Periodic Acid-Schiff*", ácido peryódico de Schiff.

PG: Proteoglicano.

PM: Peso Molecular.

RER: Retículo Endoplásmico Rugoso.

SO: Safranina O.

SP: "*Substance P*", sustancia P.

TGF- β : "*Transforming Growth Factor- β* ", factor transformante de crecimiento- β .

TNF- α y β : "*Tumor Necrosis Factor α y β* ", factor de necrosis tumoral α y β .

TIMP: "*Tissue Inhibitor of Metalloproteinases*", inhibidor tisular de las metaloproteinasas.

UNIVERSIDADE DA CORUÑA
Servicio de Bibliotecas



1700759567