

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA



**“PRESERVACIÓN DEL CARTÍLAGO ARTICULAR
PULVERIZADO”**

Por:

M.C.P. Luis Javier Garza Gutiérrez

**Como requisito parcial para obtener el grado de Especialidad
Médica en Ortopedia y Traumatología.**

Diciembre, 2020

“PRESERVACIÓN DEL CARTÍLAGO ARTICULAR PULVERIZADO”

Aprobación de la Tesis



Dr. C. Jorge Lara Arias

Director de Tesis



Dr. med. Víctor Manuel Peña Martínez

Jefe del Servicio o Departamento



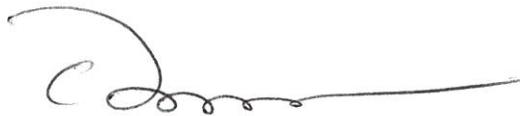
Dr. Santiago de la Garza Castro

Jefe de Enseñanza



Dr. med. Carlos Alberto Acosta Olivo

Coordinador de Investigación



Dr. med. Felipe Arturo Morales Martínez

Subdirector de Estudios de Posgrado

El presente trabajo se llevó a cabo en el Servicio de Ortopedia y Traumatología y en el Laboratorio de Ingeniería Tisular del Banco de Hueso y Tejidos del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la Universidad Autónoma de Nuevo León, bajo la dirección del Dr. C. Jorge Lara Arias

Dedicatoria y Agradecimientos

Quiero agradecer primeramente a Dios por permitirme vivir plenamente y feliz, por permitirme llegar hasta esta etapa de mi vida y lograr terminar mi residencia en ortopedia y traumatología.

A mi novia Paola Montalvo, por estar ahí en todos los momentos difíciles, ayudarme y apoyarme en cada una de las etapas de mi vida tanto personal como profesional, te mereces que de lo mejor de mí para superarme y recompensarte por todo el apoyo que me has dado a lo largo de nuestra relación y este logro no solamente es mío, también es tuyo y sin tu apoyo no lo hubiera conseguido. Me brindaste paz y tranquilidad cuando lo necesitaba y me permitiste desarrollarme tanto en el ámbito profesional como en el personal.

A mi madre, por todo el apoyo incondicional que me diste desde el momento en el que nací has estado ahí para mí, anteponiendo tus necesidades a las mías y sirviendo como un apoyo y guía a lo largo de todas las etapas de mi vida, gracias mamá por estar siempre ahí, por ayudarme a sobrellevar todo y lograr superar mis obstáculos.

A mi padre, por siempre brindarme su apoyo incondicional y por ser siempre una voz de razón y experiencia a lo largo de mi camino. Gracias papá por ser un ejemplo a seguir tanto como persona como médico. Y por inspirarme a estudiar esta carrera y superarme día a día, no solamente has sido un buen padre si no también un amigo.

A todos mis maestros, en especial al Dr. Félix Vilchez, Dr. Víctor Peña, Dr. Carlos Acosta, Dr. Santiago De la Garza y al Dr. Jorge Lara que, gracias a sus conocimientos, experiencia y enseñanzas, facilitaron mi enseñanza para lograr ser quien soy ahora. Estaré eternamente agradecido por las capacidades y habilidades que me ayudaron a forjar, espero que sirvan para mejorar el mundo en el que vivimos.

A todos mis pacientes, pues cada uno de ellos ha sido un libro de conocimiento y aprendizaje que no se puede medir, obteniendo por medio de ellos: experiencia, sabiduría, empatía y vocación.

Y finalmente quiero agradecer a mis compañeros de residencia Wong, Checo, Manatuou, Julio y Kike ya que junto a ellos viví esta etapa de mi vida que este mes culmina. Preparándonos juntos para iniciar una vida nueva como traumatólogos y ortopedistas.

A todos ustedes: ¡Gracias, Totales!

Índice

ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE TABLAS	viii
ABREVIATURAS	xi
CAPÍTULO I	x
1. RESUMEN	x
CAPÍTULO II	1
2. INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO III	6
3. JUSTIFICACIÓN	6
CAPÍTULO IV	7
4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	7
CAPÍTULO V	8
5. HIPÓTESIS	8
CAPÍTULO VI	9
6. OBJETIVOS	9
CAPÍTULO VII	11
7. MATERIAL Y MÉTODOS	11
CAPÍTULO VIII	15
8. RESULTADOS	15
CAPÍTULO IX	17
9. DISCUSIÓN	17
CAPÍTULO X	19
10. CONCLUSIONES	19
CAPÍTULO XI	20
11. BIBLIOGRAFÍA	20

Índice de Figuras

Figura 1. Estructura del cartílago articular

Índice de Tablas

Tabla 1. Viabilidad celular

Abreviaturas

BMS	Estimulación de médula ósea
EMCA	Aloinjerto de cartílago articular con matriz extracelular
OCL	Lesiones osteocondrales
PCA	Cartílago articular particulado

Capítulo I

1. Resumen

Luis Javier Garza Gutiérrez

Fecha de Graduación: Diciembre, 2021

Universidad Autónoma de Nuevo León

Servicio de Ortopedia y Traumatología, Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González “

Título de la Tesis: Preservación del Cartílago Articular Pulverizado

Número de Páginas:

Área de Estudio: Ciencias de la Salud

Introducción. El cartílago es un tipo de tejido conectivo cuya función es proteger los huesos de las articulaciones diartrodiales de las fuerzas de fricción asociadas con el soporte de carga e impacto. Debido a la escasa nutrición, la tasa de reparación es muy baja y el destino de este tejido es la destrucción y posterior deterioro de la superficie articular. Existen diversas técnicas dentro de la ingeniería de tejidos para tratar de reparar al cartílago hialino. Sin embargo, hasta el momento no existe una técnica capaz de restablecer la superficie articular con un tejido con características similares.

Objetivo. Analizar la vida media del cartílago articular pulverizado y particulado, mantenidos en medios de cultivo. A partir de cartílago articular de origen cadavérico.

Materiales y métodos. A partir de cartílago cadavérico, se obtuvieron cortes en cubos de 3 x 3 mm³ aproximadamente, así como cartílago pulverizado utilizando un molino granulador especializado. Se cultivaron por triplicado en placas de 24 pozos durante 24 horas, 7, 15 y 30 días. Finalmente se determinó la viabilidad celular mediante la técnica del azul Alamar.

Resultados. La viabilidad media de los condrocitos a las 24 horas en el cartílago articular particulado fue de 93.2% y de 86.6% en el cartílago. Sin embargo, a los 15 días posteriores, encontramos una diferencia significativa en la viabilidad de los condrocitos del cartílago pulverizado, en comparación a las células del cartílago particulado.

Conclusiones. El proceso de pulverización pudiera favorecer la nutrición de los condrocitos al interior del cartílago a mediano plazo, así como la migración y proliferación celular en el sitio de aplicación.

Capítulo II

2. Introducción

El cartílago articular es un tejido elástico, duradero y resistente, carente de nervios, de vasos sanguíneos y linfáticos, que reduce la fricción y ofrece una superficie articular lubricada que permite a su vez, que los huesos puedan deslizarse. Se nutre del líquido sinovial, por un mecanismo de difusión. Se divide en tres zonas, la capa superficial, la capa de transición media o radial y el cartílago calcificado y en cada una de ellas varían la estructura y composición, el volumen y la forma celular, el diámetro y la orientación de las fibras de colágeno, así como la concentración de proteoglicanos (Figura 1) (Matsiko A, *et al.* 2013).

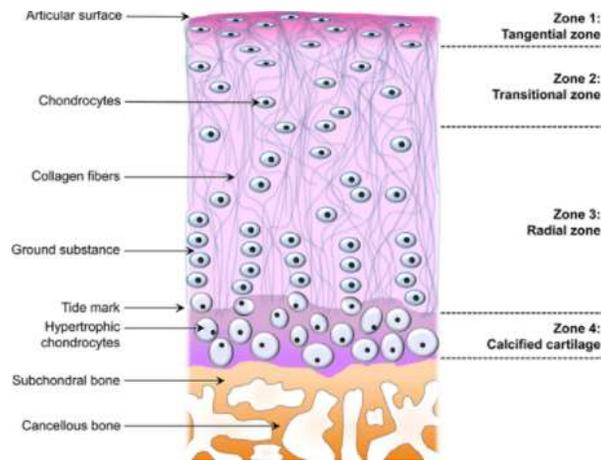


Figura 1. Estructura del cartílago articular.

El condrocito es una célula altamente diferenciada y especializada con capacidad limitada de proliferación y una vida media muy larga. Su tamaño, forma y actividad metabólica varían según las diferentes zonas del cartílago. En el cartílago maduro normal los condrocitos sintetizan macromoléculas que mantienen la matriz y pueden aumentar su tasa de síntesis ante una lesión o frente a cambios degenerativos, pero son incapaces de reparar defectos tisulares importantes. Después de una lesión articular y, también, en los procesos degenerativos proliferan algunos condrocitos, pero esta respuesta es muy limitada y no hay evidencia de que emigren a través de la matriz hasta la zona lesionada.

El proceso reparativo del cartílago articular consiste en el reemplazo de la matriz extracelular y las células. Por la baja densidad celular y la incapacidad de los condrocitos para migrar hacia el defecto, la reparación requiere un considerable esfuerzo en un tejido ya de por sí comprometido por la falta de riego sanguíneo. El tamaño de la lesión condral influye directamente en la reparación. Lesiones menores de 1 mm de diámetro curan con facilidad mientras que cuando son mayores de 3 mm de diámetro es más complicado (Knight M, *et al.* 2013).

Las lesiones osteocondrales (OCL) se están descritas en un amplio margen de patologías que resultan en una disrupción del cartílago articular y el correspondiente hueso subcondral. Otros términos que se refieren a las OCL son defectos osteocondrales, fracturas transcondrales y osteocondritis disecante, sin embargo, esta última sugiere una etiología enfocada en una necrosis espontánea del hueso.

Las OCL a menudo requieren una reparación quirúrgica debido al potencial limitado del cartílago nativo para curarse a sí mismo (Saxena A, *et al.* 2007). La estimulación de la médula ósea (BMS) es un procedimiento de reparación que generalmente se realiza para las OCL focales sintomáticas (Choi WJ, *et al.* 2009). Esto proporciona un relleno de fibrocartílago al área de pérdida de

cartílago. Se ha informado que las tasas de éxito para BMS son de hasta aproximadamente 85% en estudios de corto a mediano plazo (Asik M, *et al.* 2008., Ross KA, *et al.* 2014). Sin embargo, este fibrocartílago reparador se deteriora con el tiempo, lo que lleva a los investigadores a buscar métodos alternativos para estimular la regeneración del cartílago de tipo hialino (Shapiro F, *et al.* 1993).

Los aloinjertos de cartílago que contienen matriz extracelular (EMCA) (BioCartilage; Arthrex Inc) y los aloinjertos de cartílago particulado (PCA) (DeNovo NT; Zimmer Biomet Inc) son novedosos compuestos biológicos utilizados en la práctica clínica actual que pueden mejorar la calidad de la regeneración del cartílago. Los EMCA contienen matriz extracelular que incluye colágeno tipo II, proteoglicanos y factores de crecimiento que estimulan la síntesis de cartílago. Se usan como biológicos adyuvante a la técnica BMS. La teoría predominante es que BMS incita la migración de las células madre al sitio del defecto, mientras que las EMCA facilitan la condrogénesis al actuar como un tejido red que promueve la interacción celular.

En comparación, los PCA contienen un andamio con condrocitos juveniles (los donantes usualmente tienen 3 años de edad, pero pueden tener hasta 13 años

de edad). La teoría detrás de las PCA es que, al implantar un cartílago juvenil sano, que tiene un mayor potencial condrogénico que las células adultas, las PCA producirán y/o mantendrán una matriz cartilaginosa similar al cartílago nativo, facilitando así la reparación (Seow D, 2017).

Capítulo III

3. Justificación

El uso del cartílago alogénico particulado ha demostrado ser un tratamiento aceptable para rellenar defectos condrales.

Sin embargo, la vida media de los condrocitos al interior de dichas partículas puede afectarse debido a que la nutrición del cartílago articular es mediante difusión.

Por lo tanto, el presente estudio pretende evaluar la viabilidad de condrocitos contenidos en cartílago articular pulverizado.

Capítulo IV

4. Pregunta de Investigación

¿Cuál es la vida media del cartílago articular pulverizado?

Capítulo V

5. Hipótesis

Los condrocitos del cartílago articular pulverizado son viables por más tiempo que los condrocitos del cartílago particulado.

Capítulo VI

6. Objetivos

4.1 Objetivo general

Analizar la vida media del cartílago articular pulverizado y particulado, mantenidos en medios de cultivo.

4.2 Objetivos secundarios

A partir de cartílago articular del astrágalo de donadores procurados por el Banco de Hueso y Tejidos.

1. Se disejarán fragmentos de $2 \times 2 \text{ cm}^2$ y se realizará:
 - a. Cortes en cubos de $3 \times 3 \text{ mm}^3$ aproximadamente.
 - b. Pulverizado (Medición de partículas).
2. Se cultivarán por triplicado en placas de 24 pozos durante 24 horas, 7, 15 y 30 días.
3. Se determinará la viabilidad celular mediante la técnica del azul Alamar.

4. Se realizarán ensayos de expresión molecular para determinar si los condrocitos del cartílago articular sujetos de estudio, mantienen su capacidad para producir proteínas de la matriz extracelular.

Capítulo VII

7. Material y Métodos

5.1 Diseño de estudio

El presente trabajo es un estudio experimental, comparativo, prospectivo, *in vitro* y ciego respecto al evaluador.

5.2 Metodología

Previa aprobación del Comité de Ética y Comité de investigación de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario de la Universidad Autónoma de Nuevo León, se utilizará cartilago articular obtenido del astrágalo de donadores cadavéricos procurados bajo los criterios del Banco de Hueso y Tejidos del Servicio de Ortopedia y Traumatología.

5.3 Procesamiento

Se recuperó el tejido cartilaginoso proveniente de las superficies articulares del astrágalo con un bisturí. Este procedimiento se llevó a cabo en el Banco de Hueso y Tejidos. El material obtenido se lavó en una caja Petri con una solución

de PBS al 1X y antibiótico (Gentamicina 50 µg/mL) con el objetivo de retirar material óseo y hemático que pudiera estar presente durante el proceso de corte. Se disecaron fragmentos de cartílago de 2 x 2 cm² con el objetivo de partir de piezas de tamaño uniforme.

Para el primer grupo, el cartílago fue seccionado en fragmentos de 3 x 3 cm³ aproximadamente. Para el segundo grupo, el cartílago se pulverizó en el Molino Mezclador modelo MM400 marca RETSCH de fabricación alemana, desarrollado especialmente para la molienda por vía seca y húmeda. Para ambos grupos, el producto resultante se pesó y fue distribuido en cantidades iguales en placas de cultivo (Corning) de 24 pozos por triplicado. Se cambió el medio de cultivo cada tercer día (DMEM/F12 [GIBCO®, Thermo Fisher Scientific, Grand Island, NY, USA] adicionado con 50 µg/mL de gentamicina [GIBCO®], 0.25 µg/mL de Fungizone® [GIBCO®]) suplementado con 10% de SBF (suero bovino fetal, Corning, Mediatech Inc., Manassas, VA, USA) y se tomaron muestras a las 24 horas, 7, 15 y 30 días. Todo el ensayo se mantuvo a 37°C, con atmósfera de 5% de CO₂.

De tal manera que, se generaron 2 grupos:

Grupo 1: Cartílago particulado

Grupo 2: Cartílago pulverizado

5.4 Criterios de inclusión

Cartílago articular con superficie articular macroscópicamente sana.

5.5 Criterios de exclusión

Cartílago articular con superficie articular erosionada

5.6 Ensayos

- a) **Medición de partículas:** Para este propósito se contó con la colaboración del Dr. Abelardo Chávez de la Facultad de Biología. Se utilizó el analizador de tamaño de partículas por difracción láser Mastersizer 3000, el cual proporciona distribuciones de tamaño de partículas rápidas y precisas tanto en dispersiones secas como húmedas.
- b) **Viabilidad celular:** Para medir la viabilidad de las células en el cartílago se utilizó el método del azul alamar (abD Serotec®) y placas de 24 pozos (Corning). Se agregó 10% de azul alamar y se incubó por 3 h a 37°C y 5% de CO₂. Se tomaron los medios de cultivo de las placas de 96 pozos a las 24 horas, 7, 15, 30 y 30 días y se utilizó un espectrofluorómetro con filtro verde de 525 nm. Los datos se normalizaron con la lectura del medio

correspondiente (sin cartílago) con 10% de azul alamar por el mismo periodo de tiempo.

5.7 Análisis estadístico

Se llevará a cabo estadística descriptiva con el cálculo de media, mediana, desviación estándar y rango. Las variables numéricas se analizarán con la prueba paramétrica ANOVA y con la prueba Post Hoc de comparaciones múltiples de Tukey para ver diferencias entre los diferentes grupos. El proceso electrónico de datos y métodos de estadística descriptiva e inferencial se llevará a cabo con el programa STATA-10-08, licencia intermed-08.

Capítulo VIII

8. Resultados

8.1 Tamaño de partículas

Para estimar el tamaño de las partículas obtenidas a partir de la molienda fina con el Molino Retsch MM400, se utilizó el tamizador Malvern Mastersize 3000 que permite la granulometría en medios acuosos, obteniéndose partículas de entre 600 y 1100 micras.

8.2 Viabilidad celular

En cuanto a la viabilidad celular, se tomó como referencia la viabilidad del 100% el día 0. A las 24 horas se valoraron ambos grupos encontrando una diferencia significativa de viabilidad a favor del grupo del cartílago particulado. Esto pudiera deberse a que el proceso de pulverización afectó la supervivencia inicial de los condrocitos sometidos a este proceso. Posteriormente a los 7 días la viabilidad celular fue muy similar en ambos grupos. Esto significa que los condrocitos del grupo del cartílago pulverizado proliferaron ya que la

viabilidad fue mayor a los 7 días que a las 24 horas. A partir del día 15, podemos observar una disminución de la viabilidad celular en ambos grupos. Lo mismo se observa a los 30 días en donde la viabilidad del grupo del cartílago particulado es menor del 50%. Sin embargo, tanto a los 15 como a los 30 días se observó una diferencia significativa a favor del grupo del cartílago articular sometido al proceso de pulverización (Tabla 1) lo cual concuerda con nuestra hipótesis que los condrocitos del cartílago articular pulverizado tendría mayor viabilidad que el particulado.

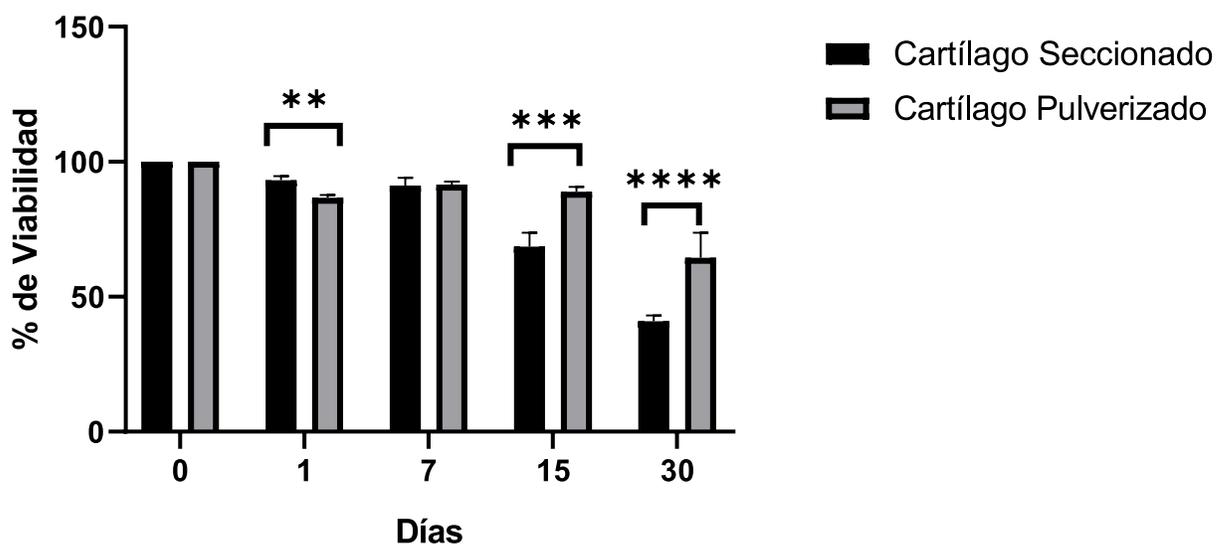


Tabla 1. Viabilidad celular a 24 horas, 7, 15 y 30 días. En los grupos a las 24 horas, 15 y 30 días la diferencia de la viabilidad entre ambos grupos fue significativa.

Capítulo IX

9. Discusión

Diversos estudios han evidenciado la eficacia del tratamiento con aloinjerto de cartílago articular particulado. Sin embargo, no encontramos antecedentes en la literatura de un estudio que valore la eficacia del cartílago articular sometido a un proceso de pulverización. Lo más cercano a este proceso, es el estudio por Levinson *et al.*, (2019) quienes utilizaron un dispositivo para obtener partículas de cartílago articular de <2mm y comparaban la viabilidad con partículas >2mm. En nuestro estudio, la viabilidad media de los condrocitos a las 24 horas en el cartílago articular particulado fue de 93.2% y de 86.6% en el cartílago pulverizado similar al estudio de Levison donde el grupo con menor tamaño tuvo una disminución de la viabilidad en comparación con el grupo de mayor tamaño.

La viabilidad celular mejoró a los 7 días al igual que el estudio de Levinson y aunque a los 15 y 30 días fue disminuyendo la viabilidad, fue significativa la diferencia a favor del grupo del cartílago articular pulverizado. Seguramente esto se debe a que los condrocitos del cartílago articular pulverizado no

solamente tuvieron mayor viabilidad mayor tiempo, si no que comenzaron a proliferar de tal manera que en el grupo de 7 días había mejorado la viabilidad. Aunque se necesitan más estudios para determinar si la migración y proliferación celular a partir del cartílago articular pulverizado son capaces de estimular una reparación en lesiones osteocondrales, este estudio demuestra el potencial de este proceso de pulverización.

Capítulo X

10. Conclusiones

- Este es el primer estudio de viabilidad celular de cartílago humano sometido a un proceso de pulverización.
- El cartílago articular sometido al proceso de pulverización tiene mayor viabilidad.
- Este proceso de pulverización pudiera favorecer la nutrición de los condrocitos al interior del cartílago a mediano plazo, así como la migración y proliferación celular en el sitio de aplicación.

Capítulo XI

11. Bibliografía

1. Asik M, Ciftci F, Sen C, Erdil M, Atalar A. The microfracture technique for the treatment of full-thickness articular cartilage lesions of the knee: midterm results. *Arthroscopy*. 2008;24(11):1214-1220.
2. Choi WJ, Park KK, Kim BS, Lee JW. Osteochondral lesion of the talus: is there a critical defect size for poor outcome? *Am J Sports Med*. 2009;37(10):1974-1980.
3. Knight, M., Wang, C., Pacifici, M. & Fernandez, P. Development of articular cartilage. *Osteoarthr. Cartil.* 21, S2–S3 (2013).
4. Matsiko, A., Levingstone, T. & O'Brien, F. Advanced Strategies for Articular Cartilage Defect Repair. *Materials (Basel)*. 6, 637–668 (2013).
5. Ross KA, Hannon CP, Deyer TW, et al. Functional and MRI outcomes after arthroscopic microfracture for treatment of osteochondral lesions of the distal tibial plafond. *J Bone Joint Surg Am*. 2014; 96(20):1708-1715.

6. Saxena A, Eakin C. Articular talar injuries in athletes: results of microfracture and autogenous bone graft. *Am J Sports Med.* 2007; 35(10):1680-1687.
7. Seow D, Yasui Y, Hurley ET, Ross AW, Murawski CD, Shimozono Y, Kennedy JG. Extracellular Matrix Cartilage Allograft and Particulate Cartilage Allograft for Osteochondral Lesions of the Knee and Ankle Joints: A Systematic Review. *Am J Sports Med.* 2017 Aug 1:363546517717494.
8. Shapiro F, Koide S, Glimcher MJ. Cell origin and differentiation in the repair of full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am.* 1993;75(4):532-553.
9. Collin M, Wixted, Travis J, Dekker, Samuel B, Adams. Particulated juvenile articular cartilage allograft transplantation for osteochondral lesions of the knee and ankle. *Expert review of medical devices.* 2020
10. Levison C., *et al.* Chondrocytes From Device-Minced Articular Cartilage Show Potent Outgrowth Into Fibrin and Collagen Hydrogels. *The Orthopaedic Journal of Sports Medicine*, 7(9), 2019.

17%
INDICE DE SIMILITUD

16%
FUENTES DE
INTERNET

3%
PUBLICACIONES

1%
TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

ENCONTRAR COINCIDENCIAS CON TODAS LAS FUENTES (SOLO SE IMPRIMIRÁ LA FUENTE SELECCIONADA)

11%

★ www.elsevier.es

Fuente de Internet

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias

< 5 words

Excluir bibliografía

Activo



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO

Dr. med. Felipe Arturo Morales Martínez
Subdirector de Estudios de Posgrado
Facultad de Medicina, UANL.
Presente.-

Por medio de la presente me permito enviarle un cordial saludo, así mismo hacer de su conocimiento que el Dr. Luis Javier Garza Gutiérrez, residente del cuarto grado de esta Especialidad realizó su tesis de manera satisfactoria bajo la dirección del Dr. med. Carlos Alberto Acosta Olivo, Coordinador de Investigación del Servicio.

Así mismo se hace constar que obtuvo el 17% de similitud en la "Plataforma Turnitin".

Sin otro particular por el momento, quedo a sus distinguidas órdenes.

Ateritamente
"Alere Flammam Veritatis"
Monterrey, N.L., a 17 de diciembre del 2020

Dr. med. Santiago de la Garza Castro
Coordinador de Posgrado del Servicio



SERVICIO DE ORTOPEDIA
Y TRAUMATOLOGÍA

SERVICIO DE ORTOPEDIA Y TRAUMATOLOGÍA

Av. Francisco I. Madero Pte.s/n. y Av. Gonzalitos, Col. Mitras Centro,
C.P. 64460 Monterrey, N.L. Mexico Apartado Postal 1-4469 Tels.: 8347-6698 y 8333-5456
E-mail: serviciotraumatologiahu@gmail.com