

Necrosis avascular de la cabeza femoral: estudio experimental en corderos

Avascular necrosis of the femoral head: experimental study in lambs

Martínez-Álvarez S¹, Azorín D¹, Epeldegui T¹, Forriol F²

¹ Hospital Infantil Universitario Niño Jesús, Madrid. ² Universidad San Pablo – CEU, Facultad de Medicina, Campus de Montepríncipe, Boadilla del Monte, Madrid.

Resumen

Objetivo: Establecer un modelo experimental reproducible, en el cordero, para provocar una necrosis avascular de la cabeza del fémur.

Material y metodología: Utilizamos 21 corderos, con edades comprendidas entre los 6 y 22 semanas. En el primer grupo (13 corderos) se seccionó la musculatura ilio-inguinal, inyectando una sustancia esclerosante y ligando los vasos pericapsulares en el cuello femoral, mediante cerclaje de alambre. En el segundo grupo (9 corderos) se ligó el cuello femoral mediante brida de plástico y sección del ligamento redondo. No se utilizó ningún tipo de inmovilización. El sacrificio de los animales se realizó, según el grupo, entre las 15 y 34 semanas. Efectuamos estudios radiográficos, macroscópicos e histológicos.

Resultados: Las cabezas femorales mostraron un centro secundario de osificación y un adelgazamiento del cartílago fisario, más intenso en los animales con evolución superior a 7 semanas tras el insulto vascular. Se observó un aumento de la densidad ósea de la cabeza femoral, con aplanamiento cefálico, disposición irregular de la fisis e hipercrecimiento del trocánter mayor. Hallamos necrosis del cartílago articular sin apreciar una invasión vascular de la zona hipertrofica del cartílago de crecimiento. En la metafisis hallamos áreas fibróticas.

Conclusión: La lesión vascular experimental en la cadera de corderos inmaduros produce cambios apreciables en el cartílago articular, el centro secundario de osificación, la fisis de crecimiento y la metafisis.

Palabras clave:

Necrosis avascular, cadera, crecimiento, cartílago de crecimiento.

Abstract

Objective: To establish a reproducible experimental model in lambs to cause avascular necrosis of the femoral head.

Material and Methods: We used 21 lambs, aged between 6 and 22 weeks. In the first group (13 lambs), the ilio-inguinal musculature was sectioned, injecting a sclerosing substance and ligating the pericapsular vessels in the femoral neck by wire cerclage. In the second group (9 lambs), the femoral neck was ligated using a plastic loop and sectioning of the round ligament. No type of immobilization was used. The animals were sacrificed, depending on the group, between 15 and 34 weeks. We conducted radiographic, gross, and histological studies.

Results: The femoral heads showed a secondary site of ossification and thinning of growth plate cartilage, more severe in the animals with course longer than 7 weeks after vascular injury. Increased bone density in the femoral head, with cephalic flattening, irregular arrangement of the physis and hypergrowth of the greater trochanter was observed. We found necrosis of joint cartilage without evidence of vascular invasion.

of the hypertrophic area of cartilage growth. We found fibrotic areas in the metaphysis.

Conclusion: Experimental vascular injury in the hip of immature lambs causes substantial changes in joint cartilage, the secondary site of ossification, the growth physis and metaphysis.

Key words:

Avascular necrosis, hip, growth, cartilage growth.

Correspondencia

S. Martínez

Servicio COT - Hospital Niño Jesús

Avda. Menéndez Pelayo 65. 28009 Madrid

smartinezal@salud.madrid.org

Introducción

La osteonecrosis traumática de la cabeza femoral es un trastorno doloroso de la cadera que se asocia a traumatismos o microtraumatismos repetidos. Con frecuencia evoluciona hacia el colapso de la cabeza femoral y termina con una artroplastia total de cadera en pacientes jóvenes [1]. La fisiopatología del fenómeno isquémico es desconocida y cuando éste aparece, se sigue con mecanismos de reparación ósea pero evoluciona hacia el colapso articular. Por ello, cuando se produce una necrosis vascular es prioritario evitar la deformación de la cabeza del fémur.

Entre los posibles mecanismos causantes se han descrito la isquemia producida por émbolos grasos [2], el taponamiento microvascular de los vasos sanguíneos de la cabeza femoral por grasa de la médula ósea [3], la coagulación intravascular [4] y la embolización retrógrada de la grasa de la médula ósea [5]. A principios de los ochenta surgió el concepto de la presión celular acumulada, una teoría que sostiene que las células óseas están expuestas a presiones o agresiones múltiples cuyos efectos producen la muerte celular [6]. Posteriormente, se demostró que la osteonecrosis se caracteriza por la apoptosis de los osteocitos y de las células de revestimiento del hueso trabecular en la lesión necrótica pero también a distancia de la lesión, en el fémur proximal [7]. Así mismo, la capacidad de replicación de las células osteoblásticas en la región intertrocanterica del fémur es menor en el hueso necrótico que en el artrósico [8]. Por otra parte, tanto el número como la actividad de las unidades formadoras de colonias de fibroblastos, que refleja el número de células mesenquimales pluripotenciales (MSC) que podrían formar osteoblastos maduros, están reducidas. A esto debemos añadir la afectación de capilares por fenómenos embólicos o trombóticos, que dificultan la llegada de células osteogénicas.

Hernigou et al [9] sugirieron que la causa de la osteonecrosis no era exclusivamente vascular y podría estar causada por una enfermedad de las células óseas o MSC. Esto se puede relacionar con el bajo grado de actividad y número de MSC del compartimento hematopoyético y estromal [10], así como con la menor proliferación de los osteoblastos [11] del tejido óseo necrótico. Si aceptamos este planteamiento fisiopatológico, la implantación en la lesión necrótica de MSC sería una línea de tratamiento en la osteonecrosis post-traumática de cabeza femoral. Cualquiera que sea la causa que provoque la necrosis (traumatismos, insultos vasculares, corticoterapia, alcohol, etc.) conlleva en el hueso en crecimiento, de manera precoz, hacia la necrosis del cartílago de crecimiento y del hueso.

El fenómeno de reparación que predomina tras la necrosis isquémica de la cabeza femoral en el hombre es un creci-

miento, por aposición, de nuevas capas de hueso a partir del hueso necrótico trabecular. Glimcher y Kenzora [11-13], en cabezas femorales humanas adultas obtenidas tras la cirugía y, también, en modelos experimentales sobre conejos [8][12] demostraron la regeneración tisular por la invasión del hueso necrótico por MSC y capilares que provienen de zonas sanas. Vieron, además, que las MSC próximas a la superficie del hueso necrótico se diferencian en osteoblastos [8] que, a su vez, forman un hueso aposicional sobre la superficie del hueso necrótico trabecular cubriendo, de forma eventual, la superficie de la cabeza femoral. Posteriormente, la zona necrótica central es reabsorbida por los osteoclastos y reemplazada por hueso neoformado. Tras estos procesos se produce el ensanchamiento de las trabéculas, el incremento de masa ósea por volumen y un aumento de la radiodensidad en las zonas de reparación.

Durante la fase de reabsorción, cuando el hueso necrótico es reemplazado por nuevo hueso y las propiedades mecánicas de la cabeza femoral se ven alteradas apreciándose un aplanamiento y una deformidad. Esta última se produce por los propios fenómenos de reparación que siguen a la necrosis isquémica y puede provocar una degeneración precoz de la articulación que afecta directamente a su función.

Los estudios sobre hueso en crecimiento en niños y adolescentes, como ocurre con la enfermedad de Perthes, son difíciles de realizar por la imposibilidad de obtener muestras de dichas cabezas femorales inmaduras. Nuestra hipótesis de trabajo es que la alteración de la vascularización aislada produce una alteración en la extremidad proximal del fémur del cordero semejante a lo que se conoce en clínica humana osteonecrosis post-traumática. El objetivo inicial de este estudio es establecer un modelo adecuado, reproducible y seguro en el cordero, conociendo los tiempos para producir una necrosis cefálica de la cabeza del fémur como modelo experimental.

Material y métodos

Realizamos un estudio experimental, comparativo, mediante intervención quirúrgica, prospectivo, de resultados radiológicos e histológicos. El proyecto de investigación experimental fue aprobado por el Comité de Ética de la Fundación de Investigación Biomédica del Hospital Niño Jesús

Utilizamos para el estudio 22 corderos (*Ovis Aries*), con edades comprendidas entre los 6 y 22 semanas. En el primer grupo (13 corderos), de edades comprendidas entre 6 y 15 semanas (media 13 semanas) se realizó un abordaje anterior de la cadera derecha, seccionando la musculatura ilio-inguinal, inyectando una sustancia esclerosante y ligando los vasos pericapsulares en el cuello femoral, mediante cerclaje de alambre (Figura 1).

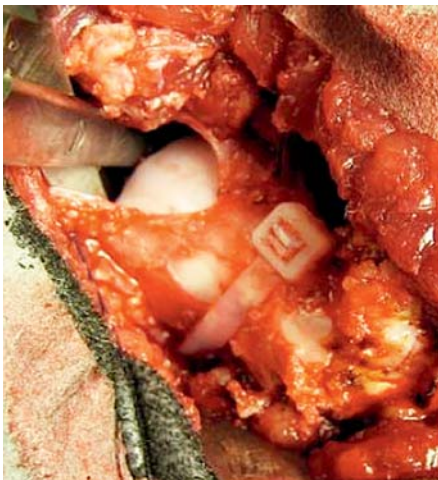


Fig. 1. Abordaje lateral de la cadera y cerclaje alrededor del cuello femoral mediante brida de plástico y sección del ligamento redondo sin luxar la cabeza femoral.

En un segundo grupo (9 corderos), de edades comprendidas entre 19 y 22 semanas (media 20 semanas), se realizó un abordaje lateral de la cadera izquierda con ligadura en el cuello femoral mediante brida de plástico y sección del ligamento redondo.

Técnica quirúrgica

La cirugía se efectuó bajo anestesia general y profilaxis antibiótica y preparación aséptica de la cadera. Se colocó el animal en decúbito supino. En el primer grupo se realizó un abordaje inguinal, sobre la cadera derecha de 10 cm, sobre el pliegue inguinal. Se identificaron la arteria y vena femorales profundas, procediéndose a la inyección de sustancia esclerosante al 2% 1,5 cc. Se seccionó la musculatura aductora, se efectuó una capsulotomía en T, con desperiostización del cuello femoral, sin luxación coxofemoral. Posteriormente se pasaron dos cerclajes de alambre por el cuello femoral que se enrollaron para rodear el cuello y evitar la penetración vascular. Una vez realizados los gestos se cerró por planos y se suturó la musculatura aductora, la piel y el tejido subcutáneo (Vicryl 00). El tiempo medio de cirugía fue de 62 minutos (30 a 90 minutos), en su mayor parte, por la dificultad en el paso de los alambres.

En el segundo grupo se siguió el mismo protocolo general pero se posicionaron los animales en decúbito lateral derecho para efectuar un abordaje posterolateral mediante una incisión longitudinal de 10 cm. Se localizó el trocánter mayor y se desinsertaron la musculatura rotadora y glútea para acceder a la capsula articular de la cadera. Se realizó una capsulotomía

parcial procediendo al cerclaje del cuello femoral mediante una brida de plástico. Posteriormente, se seccionó el ligamento redondo subluxando la cabeza femoral. Por último, se cerró la cápsula y reinsertó la musculatura abductora y rotadora con puntos transóseos, suturando por planos. El tiempo medio de la cirugía fue 22 minutos (15 a 30 minutos).

Protocolo postoperatorio

No se utilizó ningún tipo de inmovilización y tras la intervención se dejó a los animales caminar libremente por sus jaulas. El sacrificio de los animales se realizó, según el grupo, entre las 15 y 34 semanas. Cuatro animales fueron sacrificados previamente un caso por infección, otro por luxación, otro por necrosis del miembro y, el último, por deterioro del estado general y disnea.

Eutanasia y necropsia

El sacrificio se realizó mediante la inyección de 0,1 mg/kg peso de xilacina, 0,1 mg/kg peso de morfina, 10 mg/kg de peso de ketamina y 5 g de fenobarbital. La porción proximal del fémur de cada uno de los animales fue disecada, examinada macroscópicamente y radiografiada antes de proceder a su estudio histológico.

Estudio radiográfico

Se efectuaron radiografías de anteroposterior de ambas caderas en los animales vivos y radiografía una radiografía de contacto, después de extraer las piezas y cortarlas por la mitad en el plano coronal, tras el sacrificio.

Estudio histológico

Las preparaciones para el estudio histológico se colocaron, una vez cortadas las piezas, en formol durante 7-15 días, para posteriormente pasarlas por una solución decalcificante con EDTA, durante 6-8 semanas. Una vez decalcificadas se procedió a su corte para su procesado y posterior corte de 4 μ m que se tiñeron con tricrómico de Mason y Safranina 0. Las secciones fueron examinadas y fotografiadas con el uso de un microscopio.

Resultados

Se analizaron las cabezas femorales de los corderos del grupo 1, observando un centro de osificación secundario (COS) rodeado de cartílago epifisario (CE). Entre el cartílago epifisario y el centro de osificación secundario observamos el cartílago de crecimiento. La fisis metafisaria se situaba en la base del centro de osificación secundario.

Los resultados fueron muy similares en ambos grupos, no hallando diferencias entre la vía de abordaje, la utilización

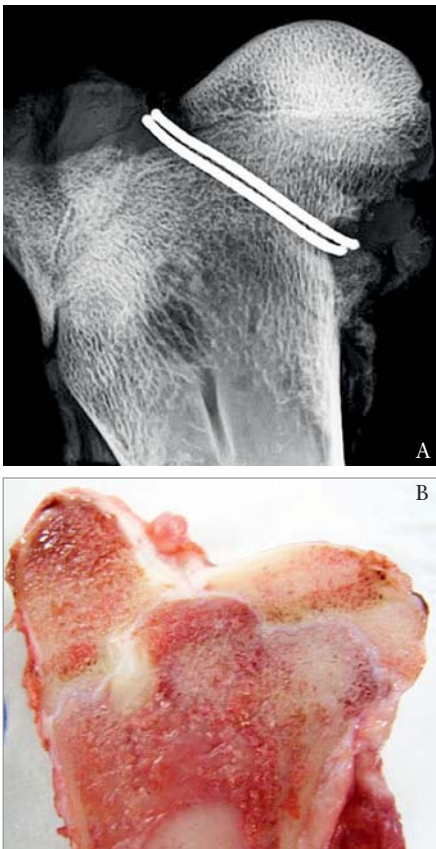


Fig. 2. a) Radiografía de contacto de la extremidad proximal del fémur tras lesión vascular de la misma, b) sección macroscópica con aplanamiento de la cabeza femoral e hipercrecimiento del trocánter mayor. En la región epifisaria se aprecia un hueso trabecular con aspecto claro que sugiere necrosis grasa.

de sustancias esclerosantes, el método de cerclaje o la sección del ligamento redondo.

Resultados macroscópicos

El examen de las cabezas femorales mediante corte coronal mostró un centro secundario de osificación y un adelgazamiento del cartílago fisario. Este adelgazamiento era más intenso en los animales con evolución superior a 7 semanas tras el insulto vascular. El hueso trabecular presentaba un aspecto claro que sugería necrosis (Figura 2) (Figura 3).

Resultados radiográficos

Evidenciamos, en las radiografías, necrosis de la cabeza femoral a partir de la quinta semana. Se observó un aumento de la densidad de la cabeza femoral, con aplanamiento cefálico e hipercrecimiento del trocánter mayor. Además,

apreciamos una hipercrecimiento del cartílago que rodea a la cabeza femoral (Figura 2) (Figura 3).

Resultados histológicos

La necrosis del cartílago articular fue evidente desde las cinco semanas de la cirugía. En el cartílago articular observamos una disminución del grosor asociado a una desestructuración de las columnas de condrocitos (Figura 4). La fisis mostró una morfología irregular con pérdida de la disposición columnar. Aparecieron lagunas vacías en la zona proliferativa e hipertrófica del cartílago de crecimiento que rodeaba el centro de osificación secundario. Los condrocitos del cartílago de crecimiento presentaron una ausencia de los núcleos que sugieren muerte celular (Figura 5). El cartílago epifisario alrededor del cartílago de crecimiento estaba adelgazado.

El cartílago articular mostró una interrupción ante la presencia de un tejido fibroso que se introducía entre las trabéculas del hueso subcondral. No observamos invasión vascular de la zona hipertrófica de condrocitos. En la epífisis

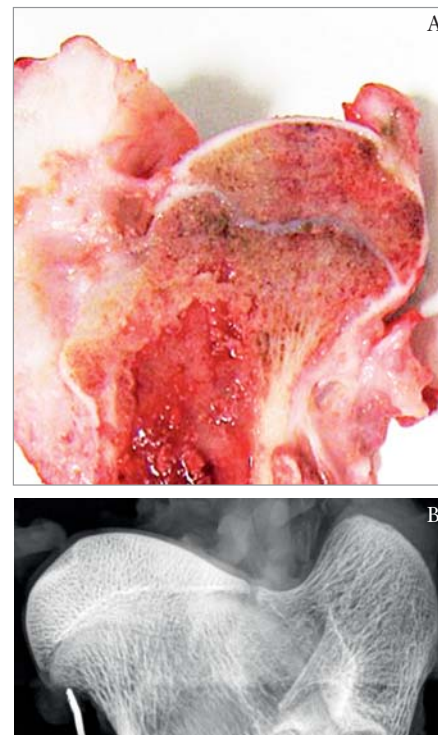


Fig. 3. a) colapso de la cabeza femoral con aplanamiento y congestión venosa. Existe un hipercrecimiento del trocánter mayor, b) aumento de la densidad radiológica, hipertrofia del cartílago articular en las zonas periféricas.

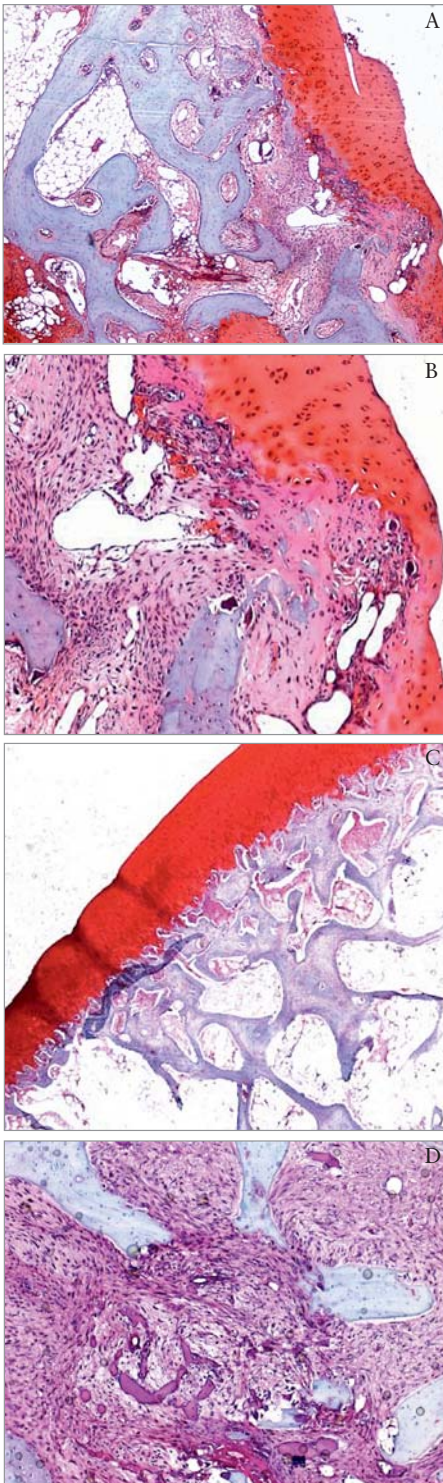


Fig. 4. a) disminución del grosor del cartilago articular e invasión de éste por tejido fibrovascular, b) detalle sobre la invasión de tejido fibrovascular, c) disminución del grosor del cartilago articular en la zona lateral de la cabeza femoral, d) intensa fibrosis en la epífisis.

encontramos trabéculas engrosadas, desapareciendo el tejido adiposo intertrabecular que fue sustituido por degeneración mucóide. También las vacuolas fueron más pequeñas por necrosis del espacio graso.

En la metafísis hallamos fibrosis con presencia de hueso neoformado en las trabéculas gruesas y presencia de vasos congestivos. Observamos áreas de degeneración mucinosa (Figura 6).

Discusión

Se han empleado diferentes modelos experimentales para estudiar los efectos de la isquemia en la cabeza femoral, describiendo diferentes métodos y modelos en cerdos [2-4][14-17], perros [18][19], ratas [20], cordero [21], conejos [13]. Hemos elegido el cordero ante la escasez de datos bibliográficos acerca de la vascularización de la cabeza femoral. Hay que tener en consideración que en todos los modelos no se producen los mismos cambios histológicos. Nuestro trabajo

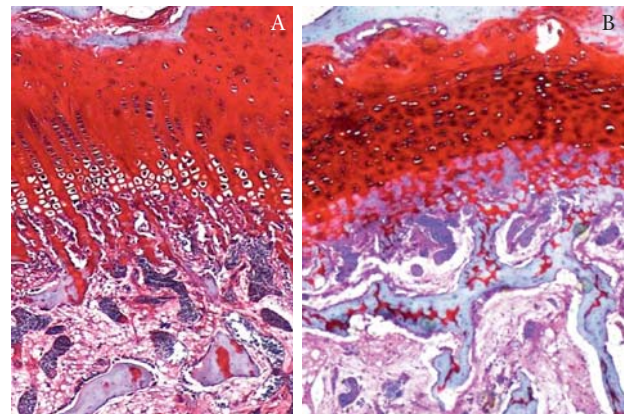


Fig. 5. a) Cartilago de crecimiento que rodea al centro secundario de osificación, b) lagunas vacías en las zonas proliferativas e hipertróficas y una pérdida de la disposición columnar del cartilago fisario.

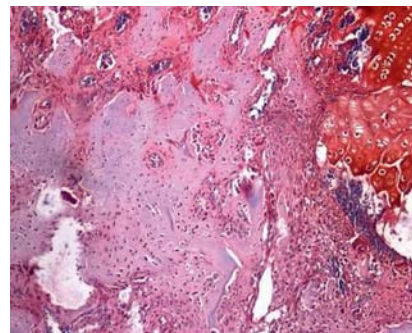


Fig. 6. Fibrosis del espacio metafisario con presencia de neoformación ósea y vasos congestivos.

pone de manifiesto la afectación vascular como posible agente etiológico en la osteonecrosis postraumática y permite un mejor conocimiento de su etiopatogenia y el desarrollo de procedimientos terapéuticos.

Se han utilizado diferentes modelos experimentales para estudiar los efectos de la isquemia sobre el cartílago epifisario y la placa de crecimiento que rodea al centro secundario de osificación [14][22] pero no todos producen los mismos cambios histológicos. En un modelo experimental de perros inmaduros, la necrosis isquémica cambió la morfología y el grado, encontrando desde la normalidad hasta lesiones en el espesor completo del cartílago de crecimiento [20]. En un modelo canino de necrosis isquémica de la cabeza femoral inmadura se realizaron múltiples interrupciones del aporte vascular y se observó una afectación selectiva de la fisis que rodea al centro secundario de osificación, aunque este modelo también se asoció con muchos fallos técnicos [19][23].

Salter y Bell [24], en un modelo experimental realizado con corderos, observaron una afectación del cartílago epifisario que variaba desde una afectación parcial de la zona central de la cabeza femoral, hasta una afectación total de la cabeza femoral. Los cambios fueron más evidentes en los especímenes de mayor evolución, apareciendo siempre con más de 7 semanas desde la cirugía. En los corderos en los que se dejó evolucionar la necrosis hasta las 11 semanas observamos la mayoría de los cambios, tanto macroscópicos como microscópicos. Nuestro modelo presenta una baja tasa de fallos siendo los resultados reproducibles si bien se requiere que los animales sean muy jóvenes y esperar más de 8 semanas para ver las alteraciones con claridad. Solo cuatro animales tuvieron que ser sacrificados antes de tiempo, dos por causas generales y otros dos relacionados con la técnica. Obtuvimos cambios morfológicos en la cabeza femoral en aquellos animales de menor edad. Sin embargo, no vimos diferencias relacionadas por la vía de abordaje, la utilización de sustancias esclerosantes, el método de cerclaje o, lo que resulta de más interés, por seccionar o no el ligamento redondo. Las cabezas femorales intervenidas mostraron un centro secundario de osificación y adelgazamiento del cartílago fisario, más intenso en los animales con evolución superior a las 7 semanas después de la cirugía. El hueso trabecular presentó un aspecto claro de necrosis. También las imágenes radiográficas presentaron signos de necrosis de la cabeza femoral y un aumento de la densidad de la cabeza femoral, con aplanamiento cefálico e hipercrecimiento del trocánter mayor. Histológicamente la necrosis del cartílago articular fue evidente a partir de las cinco semanas de la cirugía. En el cartílago articular observamos una disminución del grosor asociado a una desestructuración celular. También la fisis mostró una morfolo-

gía irregular con pérdida de la disposición columnar encontrando lagunas vacías en la zona proliferativa e hipertrófica. Además, el cartílago epifisario alrededor del cartílago de crecimiento estaba adelgazado. Por su parte, el cartílago articular mostró una interrupción ante la presencia de un tejido fibroso que se introducía entre las trabéculas del hueso subcondral. No observamos invasión vascular de la zona hipertrófica de condrocitos. En la epífisis encontramos trabéculas engrosadas, desapareciendo el tejido adiposo intertrabecular que fue sustituido por degeneración mucoide. También las vacuolas fueron más pequeñas por necrosis del espacio graso. En la metafisis hallamos fibrosis con presencia de hueso neoformado en las trabéculas gruesas y presencia de vasos congestivos con áreas de degeneración mucinosa.

De nuestra investigación preliminar quisiéramos destacar que los cambios regenerativos, en el centro de osificación, no se producen de forma global y homogénea en la cabeza femoral. La regeneración se realiza de forma asimétrica en el centro secundario de osificación dando un aspecto de aplanamiento de la cabeza femoral en las zonas periféricas y preservación de la altura en la zona central. Además, la aparición de nuevos centros de osificación en la epífisis contribuye al aspecto irregular y fragmentado de la cabeza femoral.

Nuestro estudio no solo se centra en los cambios que aparecen en el centro de osificación secundario también ha buscado la afectación del cartílago de crecimiento que lo rodea. La lesión de este cartílago produce cambios en la forma y el crecimiento circunferencial de la cabeza femoral, que en cabezas femorales inmaduras puede comprometer la función posterior. Hemos obtenido resultados similares a los descritos en la literatura. En el clásico estudio realizado por Salter [7] sobre cerdos inmaduros, observó una deformidad grave de la cabeza femoral, a las 8 semanas de la cirugía, apreciando signos macroscópicos de colapso de la cabeza femoral, aumento de la densidad, hipertrofia del cartílago fisario e histológicos con disminución del cartílago articular en la zona lateral, bandas fibrosas, engrosamiento de las trabéculas óseas, degeneración mucoide y vacuolas más pequeñas, pérdida de la disposición columnar de la fisis de crecimiento y más evidentes a partir de la séptima semana.

Boss et al [23] realizaron un estudio experimental para valorar los efectos de la supresión vascular. Bejar et al [20] también estudiaron el efecto de la eliminación de la vascularización en las cabezas femorales de las ratas. Provocaron la necrosis de la cabeza femoral mediante la ligadura de los vasos en el cuello femoral y seccionaron el ligamento redondo que conllevó una necrosis y la sustitución del tejido óseo por tejido fibroso. Progresivamente el tejido necrótico era reemplazado por tejido graso hematopoyético confiriendo el as-

pecto de hueso anormal y biomecánicamente frágil. Además, la cabeza femoral perdía progresivamente su forma esférica. También se produjeron cambios regresivos en el cartílago articular y cambios inflamatorios en la membrana sinovial. Posteriormente estudiaron diversas opciones terapéuticas mediante la exposición a oxígeno hiperbárico, limitación de la carga, medicación con enoxaparina, reducción de la presión intraósea, mediante técnicas de descompresión de la cabeza femoral, medicación con factor endotelial de crecimiento vascular (VEGF) para estimular la revascularización y medicación con ácido zolendrónico para disminuir la actividad osteoclástica.

Microscópicamente vimos una necrosis del cartílago articular que rodea al centro de osificación secundario que fue sustituido por tejido fibrovascular que emerge desde el espacio medular, como señaló el grupo de Kim et al [3][15-17] en sus trabajos en cerdos. Es importante destacar el crecimiento anormal de la cabeza femoral, con disminución del grosor del cartílago articular y aplanamiento en la zona lateral. Esta apariencia de colapso en la zona periférica se debe al crecimiento asimétrico en la zona lateral no acompañada de crecimiento en la zona central.

Si consideramos la patología vascular como causante de la osteonecrosis de la cabeza femoral se puede aprovechar la capacidad angiogénica de las MSC de médula ósea, circulantes o progenitores endoteliales para mejorar la recuperación del flujo sanguíneo en distintos modelos isquémicos [2-4][14-20][25-28]. Kinnaird et al [28] vieron que las células estromales derivadas del hueso, en el hombre, promueven la arteriogenesis mediante mecanismos paracrinos y demostraron que la expresión de genes codificadores de citoquinas relacionadas con la arteriogenia (FGF-2), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), interleuquina-6 (IL-6) y factor de crecimiento placentario estaban aumentados. Realizó un modelo experimental de isquemia en la pata trasera de ratón, inyectando submuscularmente células estromales cultivadas derivadas del hueso y encontraron una recuperación del flujo sanguíneo colateral y de la función de la extremidad. Concluyeron que era la señalización paracrina y no la incorporación celular la causante de la mejoría de la isquemia tisular. Por su lado, Müller et al [29] valoraron la secreción de proteínas angiogénicas por las MSC y sus implicaciones clínicas en el tratamiento de la necrosis avascular. Trataron cinco pacientes con leucemia y osteonecrosis de la cabeza femoral, secundaria a corticoterapia, mediante cirugía de descompresión de la cabeza femoral e infiltración de MSC. Tras un seguimiento medio de 16 meses, apreciaron una mejoría clínica en los pacientes y la formación de hueso mineralizado en las zonas afectadas. También Wang et al [30] demost-

ron que el aumento de la producción de VEGF por las células osteoblásticas aumenta la angiogénesis y favorece el flujo de entrada de osteoblastos en la superficie ósea.

Las MSC adultas se encargan de mantener, generar y reemplazar células diferenciadas dentro de su propio tejido específico como consecuencia del recambio celular fisiológico o de daño celular por lesión [31]. Las poblaciones de células progenitoras y de MSC son los componentes superiores de sistemas continuos de renovación celular en casi todos los tejidos humanos.

Hernigou y Bernaudin [32] publicaron el primer trasplante autólogo de médula ósea en un paciente de 13 años con osteonecrosis de la cabeza humeral por drepanocitosis. Tres meses después de la implantación, las radiografías mostraron una regeneración de la cabeza humeral y en la RNM se observó una normalización de la señal de la médula ósea. Posteriormente, el mismo Hernigou et al [9][10][33] y Gangji et al [8] estudiaron la eficacia de la terapia celular en pacientes con osteonecrosis de la cabeza femoral. Tras la aspiración de 400 ml de médula ósea de la cresta iliaca se obtuvo un concentrado celular de 50 ml. Mientras, se realizó el segundo paso de la técnica, la descompresión de la cabeza femoral. Bajo control radioscópico se introdujo manualmente un trépano de 3 mm a través del trocánter, cuello y cabeza del fémur hasta la lesión necrótica y se inoculó la médula ósea en la lesión necrótica.

Hernigou y Beaujean [33] estudiaron prospectivamente 189 caderas, en 116 pacientes, tratadas mediante descompresión de la cabeza femoral e infiltración de médula ósea, con un seguimiento medio de 7 años (5-11 años). Los factores de riesgo asociados eran corticoterapia en el 16%, alcoholismo en el 30%, drepanocitosis en el 34%, trasplante en el 11%, idiopático en el 5% y de otra causa en el 4%. Cuando los pacientes fueron tratados antes del colapso de la cabeza femoral (estadios I-II), los resultados fueron mejores que en los pacientes tratados en estadios avanzados (III-IV). Gangji et al [34] estudiaron 13 pacientes (18 caderas) con osteonecrosis de la cabeza femoral estadio I-II, sin fractura subcondral, en un estudio comparativo a doble ciego. Se utilizó un grupo de referencia, sólo con descompresión de la cabeza femoral, y otro grupo de injerto de médula ósea, descompresión e implantación de células mononucleares de médula ósea. Después de dos años mejoró el dolor y los síntomas articulares en el grupo de injerto de médula ósea de manera significativa. El análisis de supervivencia también demostró una diferencia entre los dos grupos en el tiempo transcurrido hasta el colapso. Además, en el grupo de infiltración de médula ósea el volumen de la lesión necrótica descendió un 35%, a los 24 meses. En ambos estudios se observó una me-

jería en la evolución de la cabeza femoral tras la implantación de MSC en estadios iniciales de osteonecrosis.

Los trabajos realizados para el conocimiento de la fisiopatología de la osteonecrosis muestran que hay un descenso de MSC en el fémur proximal y un número insuficiente de osteoblastos para efectuar la remodelación ósea y, por lo tanto, un mecanismo de reparación inadecuado que provoca el colapso de la cabeza femoral. La implantación de células osteogénicas en estadios iniciales puede hacer que estas lesiones sean reversibles. Además, las células inyectadas en la médula ósea aportan factores óseos y angiogénicos (FGF-2, PDGF, VEGF, TGF- β , BMP-7) actuando como sustrato terapéutico, promoviendo la formación de hueso tras una fractura y osteonecrosis [35-40].

El estudio realizado tiene limitaciones pues experimentamos únicamente con la variable vascular, despreciando otros factores que también podrían provocar la necrosis ósea o que son la consecuencia de la isquemia. Además, los animales utilizados son cuadrúpedos lo que hace que el factor mecánico de la deformación y colapso no sean tan evidentes como en el hombre. Por otra parte, como ocurre con los estudios sobre el crecimiento, éste varía por razones genéticas de unos individuos a otros y es muy difícil establecer modelos homogéneos que permitan establecer el momento más adecuado para efectuar las acciones lesivas. Todo esto explica que los resultados sean diferentes de unos animales a otros y que no siempre se consiga unas lesiones de la misma magnitud.

Nuestro trabajo ha puesto de manifiesto que la necrosis isquémica de la cabeza femoral, realizada de forma experimental, provoca un daño selectivo al cartílago epifisario, el centro de osificación secundario y la placa fisaria de crecimiento. Observamos que los cambios morfológicos consisten en el adelgazamiento del cartílago articular, la muerte celular de la fisis que rodea al centro de osificación secundario, la invasión de tejido fibrovascular y el engrosamiento de las trabéculas en la epífisis y metafisis y la degeneración vacuolar y mucinosa en la metafisis. ■

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lieberman JR, Berry DJ, Mont MA, Aaron RK, Callaghan JJ, Rajadhyaksha, et al. Osteonecrosis of the hip: management in the 21 st century. *J Bone Joint Surg (Am)* 2003; 52-A:337-55.
2. Hofstaetter JG, Roschger P, Klaushofer K, Kim HK. Increased matrix mineralization in the immature femoral head following ischemic osteonecrosis. *Bone* 2010; 46:379-385.
3. Kim H, Bian H, Aya-ay J, Garces A, Morgan EF, Gilbert SR. Hypoxia and HIF-1 expression in the epiphyseal cartilage following ischemic injury to the immature femoral head. *Bone* 2009; 45:280-288.
4. Kothapalli R, Aya-ay JP, Blan H, Garces A, Kim HK. Ischemic injury to femoral head induces apoptotic and oncotic cell death. *Pathology* 2007; 39:241-246.
5. Neidel J, Zander D, Hackenbroch MH. Low plasma levels of insulin like growth factor I in Perthes disease. A controlled study of 59 consecutive children. *Acta Orthop Scand* 1992; 63: 393-398.
6. Salter RB. Legg-Perthes disease: the scientific basis for the methods of treatment and their indications. *Clin Orthop Rel Res* 1980; 150:8-11.
7. Salter RB. The present status of surgical treatment for Legg-Perthes disease. *J Bone Joint Surg (Am)* 1984; 66-A:961-6.
8. Gangji V, Hauzeur JP, Schoutens A, Hinsenkamp M, Appelboom T, Egrise D. Abnormalities in the replicative capacity of osteoblastic cells in the proximal femur of patients with osteonecrosis of the femoral head. *J Rheumatol* 2003; 30:348-51.
9. Hernigou P, Beaujean F. Abnormalities in the bone marrow of the iliac crest in patients who have osteonecrosis secondary to corticosteroid therapy or alcohol abuse. *J Bone Joint Surg (Am)* 1997; 79-A:1047-53.
10. Hernigou P, Beaujean F, Lambotte JC. Decrease in the mesenchymal stem cell pool in the proximal femur in corticosteroid-induced osteonecrosis. *J Bone Joint Surg (Br)* 1999; 81-B:349-55.
11. Glimcher MJ, Kenzora JE. The biology of osteonecrosis of the human femoral head and its clinical implications: II. The pathological changes in the femoral head as an organ and in the hip joint. *Clin Orthop Relat Res* 1979; 139:283-312.
12. Glimcher MJ, Kenzora JE. The biology of osteonecrosis of the human femoral head and its clinical implications. III. Discussion of the etiology and genesis of the pathological sequelae; comments on treatment. *Clin Orthop Relat Res* 1979; 140:273-309.
13. Kenzora JE, Steele RE, Yosipovitch ZH, Glimcher MJ. Experimental osteonecrosis of the femoral head in adult rabbits. *Clin Orthop Relat Res* 1978; 130:8-46.
14. Shapiro F. Femoral head deformation and repair following induction of ischemic necrosis. An histologic and magnetic resonance imaging study in the piglet. *J Bone Joint Surg (Am)* 2009; 91-A:2903-14.
15. Kim H. Histopathologic changes in growth-plate cartilage following ischemic necrosis of the capital femoral epiphysis: An experimental investigation in immature pigs. *J Bone Joint Surg (Am)* 2001; 83-A:688-97.

16. Kim H. Pathogenesis of metaphyseal radiolucent changes following ischemic necrosis of the capital femoral epiphysis in immature pigs. A preliminary report. *J Bone Joint Surg (Am)* 2004; 86-A:129-35.
17. Kim H. Flattening and apparent fragmentation following ischemic necrosis of the capital femoral epiphysis. *J Bone Joint Surg (Am)* 2002; 84-A:1329-34.
18. Sanchis M, Zahir A, Freeman MA. The experimental simulation of Perthes disease by consecutive interruptions of the blood supply to the capital femoral epiphysis in the puppy. *J Bone Joint Surg (Am)* 1973; 55-A: 335-42.
19. Zahir A, Freeman AR. Cartilage changes following a single episode of infarction of the capital femoral epiphysis in the dog. *J Bone Joint Surg (Am)* 1972; 54-A:125-36.
20. Bejar J, Peled E, Boss JH. Vasculature deprivation-induced osteonecrosis of the rat femoral head as a model for therapeutic trials. *Theor Biol Med Modell* 2005; 2:24.
21. McKibbin B, Holdsworth FW. The nutrition of immature joint cartilage in the lamb. *J Bone Joint Surg (Br)* 1966; 48-B:793-803.
22. Carranza A. Simulación experimental de la enfermedad de Perthes. Resumen de tesis doctoral. *Biomécanica* 1997; 9:148-53.
23. Boss JH, Misselevich I. Osteonecrosis of the Femoral Head of Laboratory Animals: The lessons learned from a comparative study of osteonecrosis in man and experimental animals. *Vet Pathol* 2003; 40:345-54.
24. Salter RB, Bell M. The pathogenesis of deformity in Legg-Perthes disease. An experimental investigation. *J Bone Joint Surg (Br)* 1968; 50-B:436.
25. Ponseti IV. Legg-Calve-Perthes disease. Histochemical and ultrastructural observations fo the epiphyseal and physis. *J Bone Joint Surg (Am)* 1983; 65-A:797-807.
26. Pringle D. Indentation properties of growing femoral head following ischemic necrosis. *J Orthop Res* 2004; 22:122-30.
27. Koob T. Biomechanical properties of bone and cartilage in growing femoral head following ischemic osteonecrosis. *J Orthop Res* 2007; 25:750-7.
28. Kinnaird T, Stabile E, Burnett MS, Lee CW, Barr S, Fuchs S, et al. Marrow-derived stromal cells express genes encoding a broad spectrum of arteriogenic cytokines and promote in vitro and in vivo arteriogenesis through paracrine mechanisms. *Circ Res* 2004; 94:678-85.
29. Müller I, Vaegler M, Holzwarth C, Tzaribatchev N, Pfister SM, Schütt V, et al. Secretion of angiogenic proteins by human multipotent mesenchymal stromal cells and their clinical potential in the treatment of avascular necrosis. *Leukemia* 2008; 22:2054-61.
30. Wang Y, Wan C, Deng L, Liu X, Cao X, Gilbert SR, et al. The hypoxia-inducible factor alpha pathway couples angiogenesis to osteogenesis during skeletal development. *J Clin Invest* 2007; 117:1616-26.
31. Carlson CS, Meuten DJ, Richardson DC. Ischemic necrosis of cartilage in spontaneous and experimental lesions of osteochondrosis. *J Orthop Res* 1991; 9:317-29.
32. Hernigou P, Bernaudin F. Course of bone tissue after bone marrow allograft in adolescents with sickle cell disease. *Rev Chir Orthop* 1994; 80:138-43.
33. Hernigou P, Beaujean F. Treatment of osteonecrosis with autologous bone marrow grafting. *Clin Orthop Rel Res* 2002; 405:14-23.
34. Gangji V, Hauzeur JP, Matos C, DE Maertelaer V, Toun-gouz M, Lambermont M. Treatment of osteonecrosis of the femoral head with implantation of atulogous bone marrow cells: a pilot study. *J Bone Joint Surg (Am)* 2004; 86-A:1153-60.
35. Shyu KG, Manor O, Magner M, Yancopoulos GD, Isner JM. Direct intramuscular injection of plasmid DNA encoding angiopoietin-1 but not angiopoietin-2 augments revascularization in the rabbit ischemic hindlimb. *Circulation* 1998; 98:2081-7.
36. Radomsky ML, Thompson AY, Spiro RC, Poser JW. Potential role of fibroblast growth factor in enhancement of fracture healing. *Clin Orthop Rel Res* 1998; 355:283-93.
37. Bostrom MP, Asnis P. Transforming growth factor beta in fracture repair. *Clin Orthop Rel Res* 1998; 355:124-31.
38. Yang C, Yang SH, Du JY, Li J, Xu WH, Xiong YF. Basic fibroblast growth factor gene transfection to enhance the repair of avascular necrosis of the femoral head. *Chin Med Sci J* 2004; 19:111-5.
39. Horwitz EM, Prockop DJ, Fitzpatrick LA, Koo WW, Gordon PL, Neel M, et al. Transplantability and therapeutic effects of bone marrow-derived mesenchymal cells in children with osteogenesis imperfecta. *Nat Med* 1999; 5: 309-13.
40. Lieberman JR, Conduah A, Urist MR. Treatment of osteonecrosis of the femoral head with core decompression and human bone morphogenetic protein. *Clin Orthop Rel Res* 2004; 429: 139-45.

Conflicto de intereses

Los autores no hemos recibido ayuda económica alguna para la realización de este trabajo. Tampoco hemos firmado ningún acuerdo por el que vayamos a recibir beneficios u honorarios por parte de alguna entidad comercial. Ninguna entidad comercial ha pagado, ni pagará, a fundaciones, instituciones educativas u otras organizaciones sin ánimo de lucro a las que estamos afiliados.