

# Medicina regenerativa de cartílago: efecto del tratamiento con ácido hialurónico reticulado bifásico en lesiones osteocondrales

José Luis Álvarez,\* Nicolás Francioni,\* Clara Operti,\* Marcelo F. Orellana,\* Octavio Santiago,\* Leandro Sarrio,\*\*  
Mariel Stur,\* Joao P. Mardegan Issa,# Santiago Fonseca,\* Sara Feldman\*

\*LABOATEM Laboratorio de Biología Osteoarticular, Ingeniería Tisular y Terapias Emergentes, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario, Santa Fe, Argentina

\*\*Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Central de Mendoza, Mendoza, Argentina

#Facultad de Odontología de Ribeirao Preto, Universidad de São Paulo, Brasil

## RESUMEN

**Objetivo:** Evaluar si el tratamiento con ácido hialurónico reticulado bifásico de lesiones osteocondrales promovería la regeneración del tejido cartilaginoso, favoreciendo así la reparación de la lesión. **Materiales y Métodos:** Quince conejos hembra adultos fueron divididos aleatoriamente en tres grupos: grupo 1, de control; grupo 2 y grupo 3, sometidos a una estrategia quirúrgica de lesión osteocondral en la rodilla derecha (4 mm de diámetro, 5 mm de profundidad), el grupo 3 recibió tratamiento con 0,2 ml de ácido hialurónico por vía intrarticular después de la cirugía. Se realizaron controles clínicos, bioquímicos, histopatológicos y estudios por imágenes. **Resultados:** Se detectaron menos casos de dolor a la palpación en el grupo 3 que en el grupo 2 a partir de los 45 días. En la resonancia magnética, casi todas las muestras del grupo 3 tenían signos de regeneración del tejido cartilaginoso en el sitio de la lesión, sin edema óseo, ni derrame articular significativo. Los estudios histopatológicos de las muestras del grupo 3 indicaron un aumento de la matriz extracelular propia de tejido cartilaginoso, comparada con la del grupo 2, con hiper celularidad, dada por condrocitos, los que formaban grupos isogénicos axiales y coroneales. **Conclusiones:** Este estudio brinda evidencias de que el tratamiento con ácido hialurónico reticulado bifásico en unidades experimentales de conejos con lesión osteocondral no tuvieron dolor en etapas tempranas después de la lesión, a diferencia de las unidades intervenidas y sin dicho tratamiento. A su vez, los estudios por imágenes e histopatológico mostraron la reparación del tejido dañado.

**Palabras clave:** Ácido hialurónico; regeneración de cartílago; lesión osteocondral.

## Regenerative Medicine: Effect of Treatment with Biphasic Cross-Linked Hyaluronic Acid in Osteochondral Lesions

### ABSTRACT

**Objective:** To demonstrate whether treatment with biphasic cross-linked hyaluronic acid in osteochondral lesions promotes the regeneration of cartilage tissue. **Materials and Methods:** Fifteen adult female rabbits were randomly assigned to three groups. G1 was the control group, whereas G2 and G3 underwent surgery to treat an osteochondral injury in the right knee (4mm diameter, 5mm depth). G3 received treatment with 0.2 ml of hyaluronic acid intrarticularly after surgery. Clinical, biochemical, histopathological controls and imaging studies were performed. **Results:** Clinically, G3 exhibited less pain on palpation than G2 after 45 days. In G3, almost all samples showed evidence of cartilage tissue regeneration at the injury site, with neither bone edema or considerable joint effusion detected on MRI. The histological tests of G3 samples revealed an increase in the extracellular matrix of cartilaginous tissue when compared to G2, with hypercellularity caused by chondrocytes that formed axial and coronal isogenic groups. **Conclusions:** This study provides evidence that treatment with biphasic cross-linked hyaluronic acid in experimental units of rabbits with osteochondral injuries did not cause pain in the early stages of the injury. In turn, imaging and histopathological studies revealed that the injured tissue had been repaired.

**Keywords:** Hyaluronic acid; cartilage regeneration; osteochondral injury.

Recibido el 30-12-2023. Aceptado luego de la evaluación el 19-7-2024 • Dr. JOSÉ LUIS ÁLVAREZ • joseluisalvarezfcm@gmail.com

 <https://orcid.org/0009-0008-4641-2621>

**Cómo citar este artículo:** Álvarez JL, Francioni N, Operti C, Orellana MF, Santiago O, Sarrio L, Stur M, Mardegan Issa JP, Fonseca S, Feldman S. Medicina regenerativa de cartilago: efecto del tratamiento con ácido hialurónico reticulado bifásico en lesiones osteocondrales. *Rev Asoc Argent Ortop Traumatol* 2024;89(4):374-384. <https://doi.org/10.15417/issn.1852-7434.2024.89.4.1871>

## INTRODUCCIÓN

El tejido osteocondral está compuesto por cartílago articular y hueso subcondral.<sup>1,2</sup> Es un tejido que presenta escasa capacidad regenerativa. Su naturaleza química y su histoarquitectura le permiten soportar grandes cargas a las cuales es sometido. Las lesiones osteocondrales se definen como aquellas que involucran el cartílago hialino y el hueso subcondral de las articulaciones; los efectos de las lesiones van desde pequeñas molestias hasta situaciones invalidantes.<sup>3</sup> Son, entonces, entidades patológicas adquiridas del hueso subcondral con afectación del cartílago articular asociado.<sup>4</sup> Con respecto a la etiología, se relaciona con factores mecánicos, traumas recurrentes, sobrecarga, infecciones y compromisos vasculares, entre otros. Estas lesiones comúnmente ocurren en la rodilla; también se ven comprometidas las superficies articulares del codo, el tobillo, la cadera y el hombro. La lesión da como resultado la deslaminación y el secuestro potencial del hueso afectado con compromiso de la función articular. Estas lesiones pueden conducir a la destrucción progresiva de la articulación y causar dolor de moderado a severo, generando situaciones invalidantes.<sup>5-7</sup> Su manejo y el tratamiento siguen siendo un desafío en el área de la Traumatología y la Ortopedia, ya que estas entidades tienen distintos comportamientos en las diferentes articulaciones que afectan. A pesar de los prometedores resultados clínicos a corto y mediano plazo, la estimulación de la médula ósea da lugar a un tejido fibrocartilaginoso con propiedades mecánicas y biológicas diferentes de las del cartílago normal.<sup>8</sup>

Entre las estrategias que han logrado una mejoría para los pacientes con lesiones articulares, se destacan los tratamientos con ácido hialurónico (AH). Se trata de una molécula biológicamente activa, normalmente secretada por los propios condrocitos, células del tejido articular.<sup>9</sup> Fue aislada, por primera vez, en 1934.<sup>10</sup> Es un glicosaminoglicano natural no sulfatado, que consta de unidades repetitivas de ácido D-glucurónico y N-acetilglucosamina, forma parte central de los proteoglicanos de la matriz extracelular del tejido, macromoléculas complejas responsables de la resistencia a la compresión del cartílago, es decir, que cumple un papel fundamental estructural del tejido. El AH también puede interactuar con las células a través de receptores en la membrana plasmática, como el receptor CD44, lo cual activaría varios efectos biológicos, como el aumento de la motilidad y la amplificación de la proliferación celular.<sup>11-13</sup>

La propuesta inicial de tratar con AH a pacientes con lesiones osteocondrales se fundamentó en intentar promover una viscosuplementación, reduciendo el dolor y mejorando la viscoelasticidad del tejido articular.<sup>14-17</sup>

Se han publicado numerosos estudios sobre el tratamiento con AH para las lesiones articulares, con resultados alentadores<sup>15-18</sup> y la mayoría ofrece resultados clínicos. En nuestro país, se ha desarrollado un AH reticulado bifásico (AHRB) que posee una semivida más prolongada. En particular, respecto a la acción del AHRB, no hay estudios que consideren su potencial acción en una lesión osteocondral de un modelo *in vivo*, considerando aspectos clínicos, bioquímicos, de imágenes e histológicos, caracterizando los potenciales cambios que podrían ocurrir en la zona de tejido lesionado frente al tratamiento.

Nuestra hipótesis de trabajo fue que el tratamiento *in situ* con este producto en las lesiones osteocondrales promovería la reparación del tejido cartilaginoso, la regeneración del tejido cartilaginoso *de novo*, favoreciendo así la reparación de la lesión con un tejido que cumpla sus funciones adecuadamente.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los estudios *in vivo* se llevaron a cabo en conejos hembra de la línea New Zealand (3-4 meses), de acuerdo con el proyecto Ingeniería de Tejidos Óseos y/o Cartilaginosos III de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Rosario, aprobado por el Comité de Ética y del CICUAL (Comisión Institucional de Cuidado y Uso de Animales en Laboratorio), Código 80020220700113UR, Resolución N.º 4888/2022, mantenidos en jaulas individuales con comida y agua *ad libitum* hasta el día anterior a la cirugía y a partir del día posterior.

Se utilizaron 15 unidades experimentales divididas aleatoriamente en tres grupos (5 en cada uno): grupo 1 (sin lesión osteocondral: 1a, 1b, 1c, 1d, 1e), este grupo se usó para el control de los estudios clínicos y bioquímicos; grupo 2 (con lesión osteocondral, sin recibir tratamiento; 2a, 2b, 2c, 2d, 2e); grupo 3 (se provocó una lesión osteocondral y luego se administró AHRB [Cientific Sinovial 60 A.F., Lab. Futerman International Products - Allanmar International Company S.R.L.]; 3a, 3b, 3c, 3d, 3e). En estudios preliminares, se pudo confirmar que este último tratamiento no afectaba clínica ni bioquímicamente a conejos sanos.

## Preparación para el procedimiento quirúrgico

Se creó un ambiente quirúrgico estéril (irradiación ultravioleta). Se rasuró la rodilla derecha, y se procedió a la asepsia de piel con fórmula yodada. Se administró cefazolina 50 mg/kg/día por vía intramuscular. Para la anestesia-sedación, se administró la combinación de hidrocloreto de ketamina 35 mg/kg, clorhidrato de xilazina al 2,0%, 18 mg/kg y acepromazina maleato al 1,0%, 1 mg/kg por vía intramuscular.

## Procedimiento quirúrgico

Se colocó a cada unidad experimental en decúbito supino en la mesa operatoria, sobre campos estériles. Se colocó un campo estéril fenestrado centrado en la rodilla, cubriendo el torso y dejando la cabeza descubierta. Se efectuó una incisión cutánea en la línea media de la rodilla derecha (5 cm de longitud) y se procedió a la divulsión por planos. Se continuó, por vía medial, con artrotomía por abordaje subvasto y luego se realizó la luxación lateral de la rótula. Se provocó una lesión osteocondral de 4 mm de diámetro y 5 mm de profundidad, utilizando una fresa motorizada en el surco troclear a nivel de los epicóndilos, como referencia anatómica. Se redujo la rótula, se suturaron la cápsula articular y el retináculo medial con Vicryl® #2.0. Se colocó una sutura subdérmica continua con Vicryl® #4.0. Luego se suturó la piel con nailon 3.0, y se finalizó con la infiltración de AHRB.

## Tratamiento con AHRB

Después de la cirugía, a cada unidad experimental del grupo 3, se le administraron 0,2 ml de AHRB por vía intrarticular, en la rodilla derecha, por única vez.

## Tratamiento del dolor posquirúrgico

Se administró tramadol 100 mg/ml, 0,12 ml cada 12 h (6 mg/kg/día) por vía intramuscular, durante tres días.

## Controles clínicos

Los controles clínicos incluyeron: temperatura corporal, estado general, respuesta al estímulo lumínico (con una linterna de intensidad 2-4 lux, se incidió en uno y otro ojo de cada unidad experimental a una distancia de 30 cm y se observó si entrecerraban los ojos, como suelen hacerlo todas las unidades de control sanas); presencia o ausencia de estados inflamatorios asociados en la zona operada visibles a nivel macroscópico. Estas evaluaciones se realizaron diariamente, en la primera semana, y luego cada 15 días hasta el final del experimento. A partir del día 15, se efectuaron estudios de palpación en la rodilla, cada 15 días, para detectar si sentían dolor (frente al dolor las unidades experimentales retraen la pierna y emiten sonidos de queja). Este proceso consistía en comprimir levemente la rodilla con la palma de la mano, a primera hora de la mañana, de todas las unidades experimentales, en cada una de sus rodillas, proceso que estuvo a cargo de un único operador, en presencia de otros dos observadores para verificar el resultado.

## Toma de muestras para estudios bioquímicos

Se tomaron muestras de sangre antes del procedimiento, a los 1, 7 y 120 días del implante. Después de la homogeneización, las muestras se colocaron en tubos con EDTA para hemogramas. Se determinaron los recuentos de glóbulos rojos y glóbulos blancos, la hemoglobina y las plaquetas para evaluar el estado posquirúrgico.

## Análisis estadísticos

Se llevaron a cabo mediante estudios no paramétricos para verificar si existían diferencias intergrupales para las variables bioquímicas testeadas (prueba de Kruskal-Wallis a los 1, 7 y 120 días del implante).

## Estudios por imágenes

A los 120 del procedimiento, a los animales anestesiados se les realizó una resonancia magnética (equipo 1.5 TESLA, General Electric, Signa HDxt con microbobina). Se obtuvieron cortes de 1 mm en los planos axial, sagital y coronal. La secuencia utilizada fue densidad protónica con supresión grasa, adecuada para valorar el cartílago articular. En el sitio de la lesión, se evaluó:

- la presencia de cartílago, estudios realizados basados en investigaciones efectuadas por otros,<sup>19-21</sup>
- la eventual presencia de edema óseo,<sup>22,23</sup>
- el derrame articular.<sup>24,25</sup>

## Protocolo de sacrificio de los animales

Los animales fueron sacrificados inmediatamente después de las resonancias magnéticas, ingresaron aún sedados a una cámara de CO<sub>2</sub>, según las normas internacionales aprobadas por el CICUAL.

## Protocolo de toma de muestras, conservación y procedimientos para estudios histopatológicos

Se realizó una incisión longitudinal en la cara medial del muslo, siguiendo la dirección del fémur. Mediante dos incisiones transversales, una proximal a la unión coxofemoral y otra distal a la terminación de la articulación de la rodilla. Se realizó la divulsión por planos. Se desarticuló la rodilla, por incisión de los ligamentos articulares, separando el muslo de la pierna. Luego, con una incisión en la cápsula y en los ligamentos coxofemorales, se desarticuló el fémur de la cadera y se obtuvo cada pieza para estudiar.

### Estudios histopatológicos

Las muestras se conservaron en formaldehído al 10% (48 h) y luego se iniciaron los procesos de descalcificación. Para ello, cada una de las muestras se sumergió en solución Biopur descalcificante estabilizado (EDTA 0,5M), con agitaciones suaves y periódicas, intercambiando semanalmente las soluciones, hasta verificar la ausencia de mineral en las muestras. Luego fueron tratadas bajo métodos histológicos convencionales hasta obtener tacos en parafina que fueron cortados con micrótopo (Leica SM2010 R) en cortes de 3 µm, longitudinales, colocados en portaobjetos y teñidos con hematoxilina-eosina (Biopack), procesando todas las muestras simultáneamente en esta última etapa. Las muestras se observaron en el microscopio óptico con aumento de 100 y 400, y se evaluaron mediante la estrategia a doble ciego. Para el recuento celular se observaron 10 campos con lente de mayor aumento para cada una de las muestras.

## RESULTADOS

### Estudios clínicos

Cada uno de los animales de los grupos 2 y 3 tuvo una adecuada respuesta al proceso anestésico y quirúrgico. En ningún animal, la temperatura aumentó por encima de los valores normales (comparación con animales del grupo 1), lo que indica un adecuado proceso quirúrgico y de profilaxis antibiótica (temperatura normal de los conejos línea New Zealand: 38,5°-39,5 °C).

Al terminar el efecto de la anestesia, los animales recibieron una hidratación normal y, a partir de las cuatro horas, se habilitó el consumo de comida, que fue igual al de los animales del grupo 1, a partir del segundo día posquirúrgico (300 ± 20 g/unidad experimental/día).

No hubo diferencias significativas intergrupales frente a estímulos lumínicos a partir del día 4 después del procedimiento. En los días 1, 2 y 3, todas las unidades experimentales intervenidas quirúrgicamente tenían menos capacidad de respuesta a la incidencia lumínica, propia de animales tratados con tramadol, lo que les produce cierto letargo.

Ninguna de las unidades sometidas al procedimiento tuvo fenómenos inflamatorios visibles macroscópicamente durante el experimento. A partir del día 15, comenzaron los estudios de dolor a la palpación en la rodilla operada, cada 15 días. Todos los animales del grupo 2 mostraron retracción frente a la palpación con muestras sonoras de dolor, hasta el día 120 inclusive. A partir del día 45 y hasta el final del estudio, ninguna unidad experimental del grupo 3 retrajo la rodilla ni produjo quejidos de dolor por la palpación.

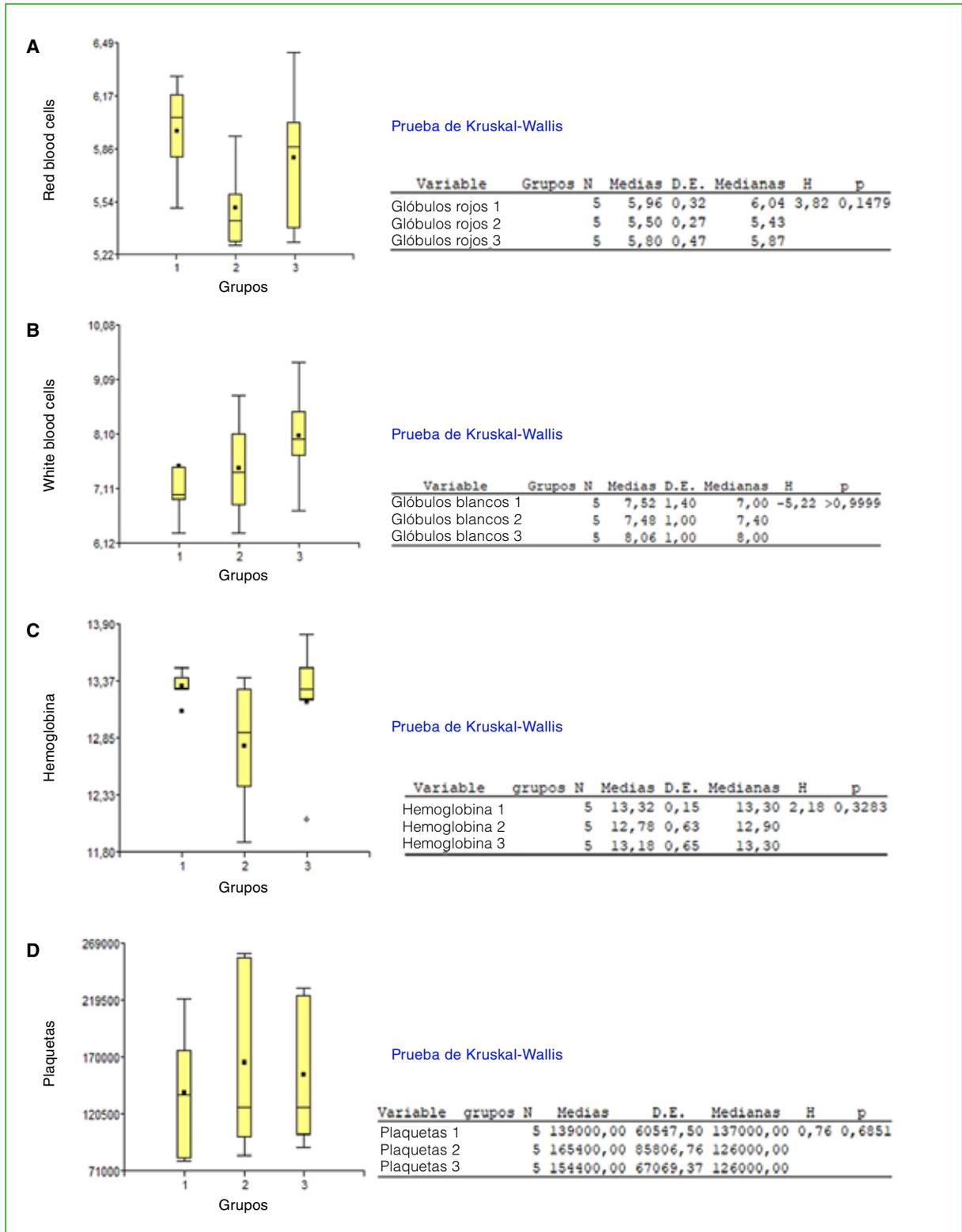
### Resultados bioquímicos

No se hallaron diferencias significativas intergrupales en los niveles de glóbulos rojos, glóbulos blancos, hemoglobina y plaquetas, en ninguno de los tiempos estudiados (Figura 1).

### Resultados obtenidos por resonancia magnética

No se visualizaron características regenerativas del cartilago en el grupo 2. Se observó gran cantidad de edema óseo, aumento del derrame articular, sin tejido condral en la zona de la lesión (Tabla).

En el grupo 3, en cambio y según lo comunicado por otros autores,<sup>19-21</sup> se observó presencia de cartilago, no había edema óseo, ni derrame articular significativo en la secuencia T1 (Tabla, Figura 2).



**Figura 1.** Diagramas de caja y bigotes que permiten visualizar y comparar la distribución y la tendencia central de valores numéricos mediante sus cuartiles, de los valores para distintas variables para los grupos 1, 2 y 3. **A.** Valores para la variable niveles de glóbulos rojos. **B.** Valores para la variable niveles de glóbulos blancos. **C.** Valores para la variable niveles de hemoglobina. **D.** Valores para la variable niveles de plaquetas. Al costado de cada gráfico se muestran los resultados del estudio estadístico de Kruskal-Wallis realizado con el programa Infostat.

**Tabla.** Resultados obtenidos por resonancia magnética

Muestra	Grupo	Presencia de cartilago	Presencia de edema óseo	Hidrartrosis
2a	2	No	No	Moderada
2b	2	Dato perdido por problemas técnicos		
2c	2	No	No	Moderada
2d	2	No	Sí	Moderada
2e	2	No	Sí	Escasa
3a	3	Leve	No	Escasa
3b	3	Sí	No	Moderada
3c	3	Sí	No	Escasa
3d	3	Sí	No	Moderada
3e	3	Sí	No	Escasa



**Figura 2.** Imágenes representativas de cada uno de los grupos obtenidas por resonancia magnética, con un equipo General Electric 1.5 TESLA con microbobina, a los cuatro meses del tratamiento. **A.** Imagen representativa del grupo 2. **B.** Imagen representativa del grupo 3.

## Resultados de los estudios histopatológicos

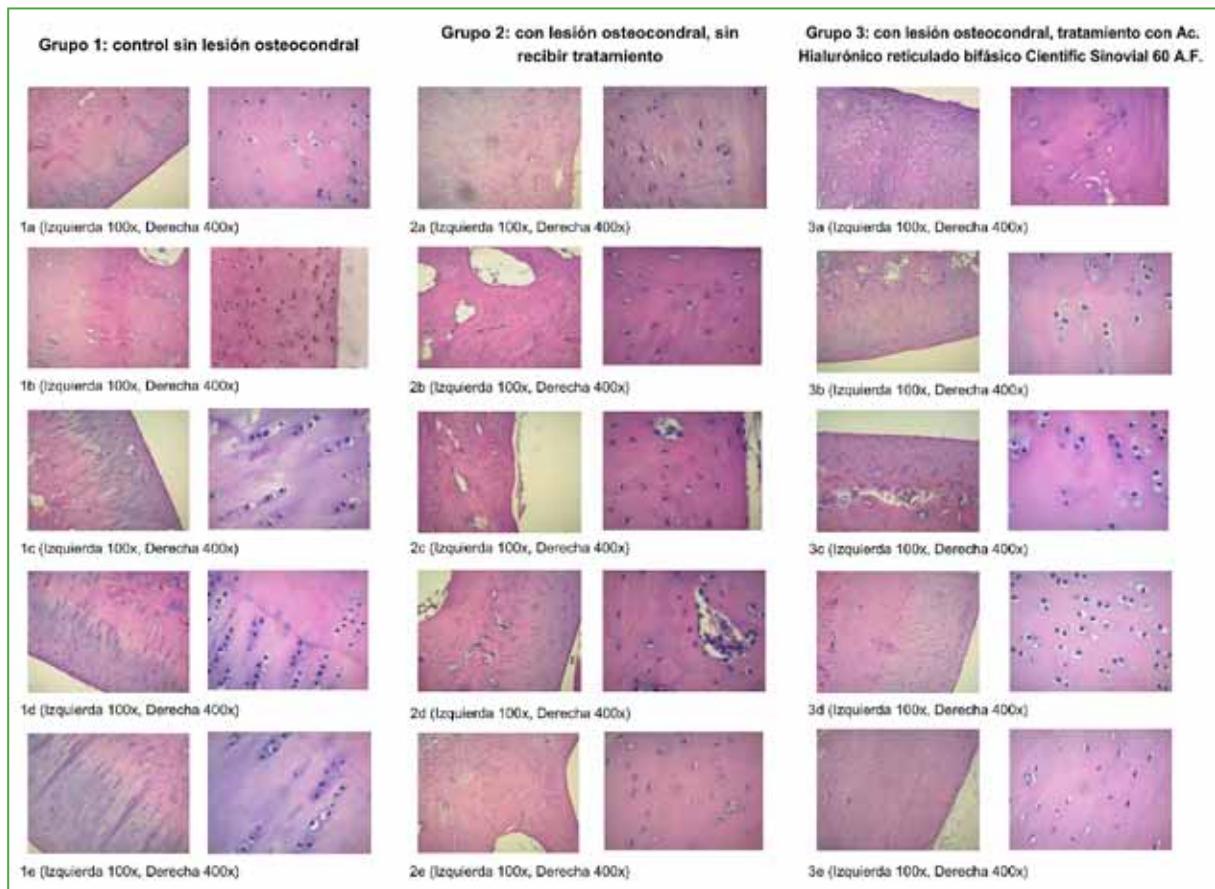
En la **Figura 3**, se muestran imágenes representativas de cada unidad experimental de cada grupo.

**Grupo 1:** en todos los campos de cada unidad, se observaron condrocitos con disposición axial o coronal, en medio de una matriz extracelular basófila, propios de un tejido cartilaginoso normal.

**Grupo 2:** se visualizó tejido en el sitio de la lesión, con tinción eosinófila de la matriz característica del tejido conectivo cicatricial. Había pocos condrocitos dispuestos de forma dispersa y desorganizada, como era de esperar, en una lesión osteocondral.

**Grupo 3:** se observó, en general, una tinción más basófila de la matriz extracelular que la del grupo 2, y más similar a la del grupo 1. Paralelamente, en muchas zonas, se visualizó hiper celularidad dada por condrocitos dispuestos formando grupos isogénicos axiales y coronales.

El recuento celular de condrocitos fue: grupo 1 > grupo 2 ( $p < 0,0002$ ; prueba de Wilcoxon), grupo 2 < grupo 3 ( $p < 0,0002$ ; prueba de Wilcoxon), sin diferencias significativas entre los grupos 1 y 3. La prueba de Kruskal-Wallis para las tres muestras juntas arrojó altas diferencias significativas entre los grupos 1 y 2, pero no respecto del grupo 3. Si bien, en el grupo 3, se ve una dispersión, debido a que una de las muestras presentó baja celularidad, el resto presentó alta celularidad compatible con tejido cartilaginoso sano y, en todas las muestras del grupo tratado con AHRB, se destaca la adecuada disposición respecto de un tejido cartilaginoso sano de los grupos condrocitarios, algo altamente relacionado con la adecuada funcionalidad del tejido (**Figura 4**).<sup>1,2</sup>



**Figura 3.** Imágenes obtenidas por captación con cámara conectada a un microscopio óptico, de muestras histológicas de los tres grupos.

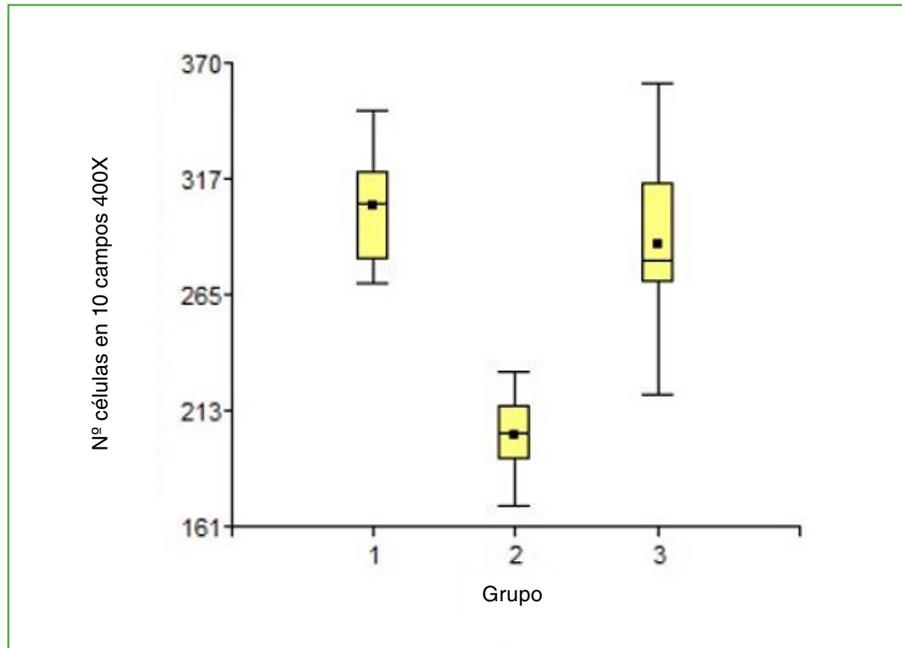


Figura 4. Recuento de condrocitos.

## DISCUSIÓN

Se ha demostrado que, ante una lesión osteocondral, el tejido cartilaginoso no tiene *per se* capacidad regenerativa, es decir, no se forma por sí solo un tejido *de novo* idéntico al original que pueda cumplir con las mismas funciones.<sup>26</sup> Cuando un defecto del cartílago no se trata, la articulación se deteriora de forma irrevocable y progresiva, provocando osteoartritis y, finalmente, discapacidades.<sup>27</sup>

Se sabe que se utiliza AH mediante inyecciones intrarticulares pretendiendo incrementar la viscosuplementación, como tratamiento para la osteoartritis, debido a su facilidad de uso y buena tolerancia.<sup>28</sup> Son muy pocos los estudios que brindan información sobre el potencial efecto regenerativo del AH y, en los casos publicados, son aplicaciones de AH asociadas a otras moléculas.<sup>29-33</sup>

Si bien se ha reportado una evidencia de regeneración de cartílago de oreja de conejos mediante la aplicación de AH,<sup>34</sup> así como existe una investigación en ratas,<sup>35</sup> se trata de un estudio preventivo, en el que, primero, se inyecta AH y luego se induce un fenómeno de osteoartritis; no hay evidencias, según los estudios por imágenes e histológicos, de que brinden información que, frente a una lesión osteocondral establecida en la rodilla, el tratamiento exclusivo con AHRB promueva la reparación del cartílago, el que en este caso posee una estructura histológica adecuada para ejercer sus funciones como en un tejido sano, lo que se postula estaría asociado a que las unidades experimentales tengan en un 100% ausencia de dolor, a diferencia de los animales sin tratar. Si bien determinar si hay dolor puede tener un sesgo subjetivo, en nuestro estudio, fue un aporte más a las otras investigaciones realizadas, ya que el dolor en seres vivos con lesiones osteocondrales es de una problemática generalizada.

La investigación llevada a cabo se fundamentó en otros estudios realizados en el área de ingeniería de tejidos en nuestro laboratorio,<sup>36-41</sup> los cuales proponen que el empleo de ciertas biomoléculas o matrices derivadas de ellas promueven la reparación del tejido dañado *de novo*, es decir, con características similares a las del tejido sano. Se aporta entonces una propuesta de puesta en práctica sencilla, sin efectos secundarios indeseables, es un tratamiento menos invasivo que otros convencionalmente utilizados<sup>42-44</sup> y de menor costo que otros.<sup>45,46</sup> A futuro, profundizar en los perfiles funcionales de condrocitos ampliará la comprensión de la biología de las articulaciones, sus cuadros y sus tratamientos.<sup>47</sup>

## CONCLUSIONES

Este estudio brinda evidencias preliminares de que las unidades experimentales con lesión osteocondral y tratadas con AHRB no tuvieron dolor en etapas tempranas después de la lesión, a diferencia de las unidades intervenidas que no recibieron dicho tratamiento, lo que demuestra paralelamente la reparación tisular cartilaginosa en el sitio lesionado, a partir de estudios de resonancia magnética e histológicos y sin efectos secundarios indeseables. Futuros estudios con marcadores celulares, aplicando técnicas inmunohistoquímicas proporcionarán más aportes sobre esta propuesta de medicina regenerativa.

## Agradecimiento

A Paola Luciana Salvatierra del Instituto de Ciencias Básicas y Aplicadas, Villa María, Córdoba, Argentina, por la revisión de los estudios estadísticos.

Conflicto de intereses: Los autores no declaran conflictos de intereses.

ORCID de N. Francioni: <https://orcid.org/0009-0005-6352-5351>

ORCID de C. Operti: <https://orcid.org/0009-0009-9065-4991>

ORCID de M. F. Orellana: <https://orcid.org/0009-0002-4313-8301>

ORCID de O. Santiago: <https://orcid.org/0009-0004-0163-1303>

ORCID de L. Sarrio: <https://orcid.org/0009-0007-1450-8517>

ORCID de M. Stur: <https://orcid.org/0000-0003-1662-5913>

ORCID de J. P. Mardegan Issa: <https://orcid.org/0000-0002-1056-0795>

ORCID de S. Feldman: <https://orcid.org/0000-0001-9804-8421>

ORCID de S. Fonseca: <https://orcid.org/0009-0008-6660-3118>

## BIBLIOGRAFÍA

1. Mills SE. *Histología para patólogos*. 4ª ed. Medellín: Editorial Amolca; 2015.
2. Ham HW, Cormack DH. *Tratado de histología*. 8ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1996.
3. Sanders RK, Crim JR. Osteochondral injuries. *Semin Ultrasound CT MR* 2001;22(4):352-70. [https://doi.org/10.1016/s0887-2171\(01\)90026-5](https://doi.org/10.1016/s0887-2171(01)90026-5)
4. Lories RJ, Luyten FP. The bone-cartilage unit in osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol* 2011;7(1):43-9. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2010.197>
5. Wiewiorski M, Pagenstert G, Rasch H, Jacob AL, Valderrabano V. Pain in osteochondral lesions. *Foot Ankle Spec* 2011;4(2):92-9. <https://doi.org/10.1177/1938640010395749>
6. Cross M, Smith E, Hoy D, Nolte SM, Ackerman I, Frnsen M, et al. The global burden of hip and knee osteoarthritis: estimates from the Global Burden of Disease 2010 study. *Ann Rheum Dis* 2014;73(7):1323-30. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2013-204763>
7. Pape D, Filardo G, Kon E, van Dijk CN, Madry H. Disease-specific clinical problems associated with the subchondral bone. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2010;18(4):448-62. <https://doi.org/10.1007/s00167-010-1052-1>
8. Bravo Molina B, Forriol F, Álvarez Lozano E. Regenerar el cartílago articular: perspectivas y futuro. *Rev Esp Artrosc Cir Articul* 2021;28(1):51-62. Disponible en: <https://fondoscience.com/sites/default/files/articles/pdf/reaca.28171.fs1911064-regenerar-cartilago-articular-perspectivas-futuro.pdf>
9. Savage-Elliott I, Ross KA, Smyth NA, Murawski CD, Kennedy JG. Osteochondral lesions of the talus: a current concepts review and evidence-based treatment paradigm. *Foot Ankle Spec* 2014;7(5):414-22. <https://doi.org/10.1177/1938640014543362>
10. Meyer K, Palmer J. The polysaccharide of the vitreous humor. *J Biol Chem* 1934;107(3):629-34. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)75338-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)75338-6)
11. García-Fuentes M, Meinel AJ, Hilbe M, Meinel L, Merkle HP. Silk fibroin/hyaluronan scaffolds for human mesenchymal stem cell culture in tissue engineering. *Biomaterials* 2009;30(28):5068-76. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.06.008>
12. Salter DM, Godolphin JL, Gourlay MS, Lawson MF, Hughes DE, Dunne E. Analysis of human articular chondrocyte CD44 isoform expression and function in health and disease. *J Pathol* 1996;179(4):396-402. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9896\(199608\)179:4<396::AID-PATH606>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9896(199608)179:4<396::AID-PATH606>3.0.CO;2-G)

13. Knudson CB, Knudson W. Hyaluronan and CD44: modulators of chondrocyte metabolism. *Clin Orthop Relat Res* 2004;(427 Suppl):S152-62. PMID: 15480059
14. Arnold W, Fullerton DS, Holder S, May CS. Viscosupplementation: managed care issue for osteoarthritis of the knee. *J Manag Care Pharm* 2007;13(4):S3-19. <https://doi.org/10.18553/jmcp.2007.13.s4.3>
15. Volpi N, Schiller J, Stern R, Soltés L. Role, metabolism, chemical modifications and applications of hyaluronan. *Curr Med Chem* 2009;16(14):1718-45. <https://doi.org/10.2174/092986709788186138>
16. Peck J, Slovek A, Miro P, Vij N, Traube B, Lee C, et al. A comprehensive review of viscosupplementation in osteoarthritis of the knee. *Orthop Rev (Pavia)* 2021;13(2):25549. <https://doi.org/10.52965/001c.25549>
17. Marshall KW. Intra-articular hyaluronan therapy. *Curr Opin Rheumatol* 2000;12(5):468-74. <https://doi.org/10.1097/00002281-200009000-00022>
18. Pereira H, Sousa DA, Cunha A, Andrade R, Espregueira-Mendes J, Oliveira JM, et al. Hyaluronic acid. *Adv Exp Med Biol* 2018;1059:137-53. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-76735-2\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-319-76735-2_6)
19. Roemer FW, Guermazi A, Demehri S, Wirth W, Kijowski R. Imaging in osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2022;30(7):913-934. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2021.04.018>
20. Figueroa D, Calvo R, Vaisman A, Carrasco MA, Moraga C, Delgado I. Knee chondral lesions: incidence and correlation between arthroscopic and magnetic resonance findings. *Arthroscopy* 2007;23(3):312-5. <https://doi.org/10.1016/j.arthro.2006.11.015>
21. Sifre V, Ten-Esteve A, Serra CI, Soler C, Alberich-Bayarri Á, Segarra S, et al. Knee cartilage and subchondral bone evaluations by magnetic resonance imaging correlate with histological biomarkers in an osteoarthritis rabbit model. *Cartilage* 2022;13(3):19476035221118166. <https://doi.org/10.1177/19476035221118166>
22. D'Ambrosi R, Maccario C, Ursino C, Serra N, Usueli FG. The role of bone marrow edema on osteochondral lesions of the talus. *Foot Ankle Surg* 2018;24(3):229-35. <https://doi.org/10.1016/j.fas.2017.02.010>
23. Ahn J, Choi JG, Jeong BO. Clinical outcomes after arthroscopic microfracture for osteochondral lesions of the talus are better in patients with decreased postoperative subchondral bone marrow edema. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2021;29(5):1570-6. <https://doi.org/10.1007/s00167-020-06303-y>
24. Roemer FW, Guermazi A, Felson DT, Niu J, Nevitt MC, Crema MD, et al. Presence of MRI-detected joint effusion and synovitis increases the risk of cartilage loss in knees without osteoarthritis at 30-month follow-up: the MOST study. *Ann Rheum Dis* 2011;70(10):1804-9. <https://doi.org/10.1136/ard.2011.150243>
25. Wang X, Blizzard L, Jin X, Chen Z, Zhu Z, Han W, et al. Quantitative assessment of knee effusion-synovitis in older adults: Association with knee structural abnormalities. *Arthritis Rheumatol* 2016;68(4):837-44. <https://doi.org/10.1002/art.39526>
26. Kleemann RU, Kroker D, Cedraro A, Tuischer J, Duda GN. Altered cartilage mechanics and histology in knee osteoarthritis: relation to clinical assessment (ICRS Grade). *Osteoarthritis Cartilage* 2005;13(11):958-63. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2005.06.008>
27. Huey DJ, Hu JC, Athanasiou KA. Unlike bone, cartilage regeneration remains elusive. *Science* 2012;338(6109):917-21. <https://doi.org/10.1126/science.1222454>
28. Légré-Boyer V. Viscosupplementation: techniques, indications, results. *Orthop Traumatol Surg Res* 2015;101(1 Suppl):S101-8. <https://doi.org/10.1016/j.otsr.2014.07.027>
29. Montarele LF, Pitol DL, Fiorelini Pereira B, Feldman S, Sassoli Fazan VP, Mardegan Issa JP. Histological and immunohistochemical analysis of the effects of topical melatonin treatment associated with collagen sponge and rhBMP-2 protein on bone remodeling. *Biomolecules* 2022;12(12):1738. <https://doi.org/10.3390/biom12121738>
30. Salamanna F, Giavaresi G, Parrilli A, Martini L, Nicoli Aldini N, Abatangelo G, et al. Effects of intra-articular hyaluronic acid associated to Chitlac (arty-duo®) in a rat knee osteoarthritis model. *J Orthop Res* 2019;37(4):867-876. <https://doi.org/10.1002/jor.24259>
31. Cardoneanu A, Macovei LA, Burlui AM, Mihai IR, Bratoiu I, Rezus II, et al. Temporomandibular joint osteoarthritis: Pathogenic mechanisms involving the cartilage and subchondral bone, and potential therapeutic strategies for joint regeneration. *Int J Mol Sci* 2022;24(1):171. <https://doi.org/10.3390/ijms24010171>
32. Park YB, Ha CW, Lee CH, Yoon YC, Park YG. Cartilage regeneration in osteoarthritic patients by a composite of allogeneic umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells and hyaluronate hydrogel: Results from a clinical trial for safety and proof-of-concept with 7 years of extended follow-up. *Stem Cells Transl Med* 2017;6(2):613-21. <https://doi.org/10.5966/sctm.2016-0157>
33. KhaliliJafarabad N, Behnamghader A, Khorasani MT, Mozafari M. Platelet-rich plasma-hyaluronic acid/chondroitin sulfate/carboxymethyl chitosan hydrogel for cartilage regeneration. *Biotechnol Appl Biochem* 2022;69(2):534-47. <https://doi.org/10.1002/bab.2130>

34. Gümüş N, Acaban MB, Demirbağ HO. Hyaluronic acid dermal filler promotes cartilage reshaping in rabbit ears. *Aesthetic Plast Surg* 2022;46(4):1932-41. <https://doi.org/10.1007/s00266-022-02873-z>
35. Ozkan FU, Uzer G, Türkmen I, Yıldız Y, Senol S, Ozkan K, et al. Intra-articular hyaluronate, tenoxicam and vitamin E in a rat model of osteoarthritis: evaluation and comparison of chondroprotective efficacy. *Int J Clin Exp Med* 2015;8(1):1018-26. PMID: 25785088
36. Vitello Xavier M, Farez N, Salvatierra PL, Jardini AL, Kharmandayan P, Feldman S. Biological performance of a bioabsorbable Poly (L-Lactic Acid) produced in polymerization unit: *in vivo* studies. *F1000Res* 2021;10:1275. <https://doi.org/10.12688/f1000research.73754.1>
37. Paulini M, Camal Ruggieri IN, Ramallo M, Alonso M, Rodriguez-Cabello JC, Esbrit P, et al. Recombinant proteins-based strategies in bone tissue engineering. *Biomolecules* 2021;12(1):3. <https://doi.org/10.3390/biom12010003>
38. Mardegan Issa JP, dos Santos Neto OM, Macedo AP, Gonçalves Gonzaga M, Lara Pereira YC, Feldman S. Evaluation of tissue in repair with natural latex and/or hyaluronic acid in surgical bone defects. *Braz Dent J* 2021;32(4):83-95. <https://doi.org/10.1590/0103-6440202104302>
39. Ramallo M, Carreras-Sánchez I, López-Fernández A, Vélez R, Aguirre M, Feldman S, et al. Advances in translational orthopedic research with species-specific multipotent mesenchymal stromal cells derived from the umbilical cord. Preclinical research with MSCs from the umbilical cord. *Histol Histopathol* 2021;36(1):19-30. <https://doi.org/10.14670/HH-18-249>
40. Coletta DJ, Missana LR, Martins T, Jammal MV, García LA, Farez N, et al. Synthetic three-dimensional scaffold for application in the regeneration of bone tissue. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology* 2018;9:277-89. <https://doi.org/10.4236/jbnb.2018.94016>
41. Cícero AM, Issa JPM, Feldman S. Matrices de tercera generación en la ingeniería de tejidos óseos. t al.: Matrices: ingeniería tisular ósea. Actualizaciones en Osteología. 2017;13(2):157. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/78781>
42. Chuckpaiwong B, Berkson EM, Theodore GH. Microfracture for osteochondral lesions of the ankle: outcome analysis and outcome predictors of 105 cases. *Arthroscopy* 2008;24(1):106-12. <https://doi.org/10.1016/j.arthro.2007.07.022>
43. Ferkel RD, Zanotti RM, Komenda GA, Sgaglione NA, Cheng MS, Applegate GR, et al. Arthroscopic treatment of chronic osteochondral lesions of the talus: long-term results. *Am J Sports Med* 2008;36(9):1750-62. <https://doi.org/10.1177/0363546508316773>
44. Polat G, Ersen A, Erdil ME, Kizilkurt T, Kilicoglu O, Asik M. Long-term results of microfracture in the treatment of talus osteochondral lesions. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2016;24(4):1299-303. <https://doi.org/10.1007/s00167-016-3990-8>
45. Geurts J, Jurić D, Müller M, Schären S, Netzer C. Novel ex vivo human osteochondral explant model of knee and spine osteoarthritis enables assessment of inflammatory and drug treatment responses. *Int J Mol Sci* 2018;19(5):1314. <https://doi.org/10.3390/ijms19051314>
46. Yousefi A, Hoque ME, Rangabhatala GSV Prasad, Uth N. Current strategies in multiphasic scaffold design for osteochondral tissue engineering: A review *J Biomed Mater Res A* 2015;103(7):2460-81. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.35356>
47. Sebastian A, McCool JL, Hum NR, Murugesh DK, Wilson SP, Christiansen BA, et al. Single-cell RNA-Seq reveals transcriptomic heterogeneity and post-traumatic osteoarthritis-associated early molecular changes in mouse articular chondrocytes. *Cells* 2021;10(6):1462. <https://doi.org/10.3390/cells10061462>