

Capacidad condrogénica de injertos libres de periostio en la reparación de defectos del cartílago articular

Estudio experimental en conejos

M. PEREZ-TINAO GÓMEZ DE SALAZAR, A. CARRANZA BENCANO y J. R. ARMAS PADRÓN

Unidad de Traumatología y Ortopedia. Departamento Docente de Cirugía. Facultad de Medicina. Universidad de Sevilla.

Resumen—Ante la incapacidad de reparación de las lesiones del cartílago articular, hemos diseñado un modelo experimental, consistente en la realización de una úlcera condral de 8 mm, en la superficie articular de la rótula, en 48 conejos distribuidos en 2 series. Mientras en la serie control (24 conejos) dicha úlcera se dejó a evolución espontánea, en la experimental (24 conejos) fue cubierta con plastia libre de periostio tibial para poder investigar la posibilidad de regeneración del cartílago articular. Los resultados se valoraron macroscópica y microscópicamente a intervalos de 1, 2, 4 y 8 semanas, comprobando la ausencia de regeneración espontánea y el desarrollo de un neocartílago hialino a partir de la plastia de periostio, con lo que se demuestra la capacidad condrogénica de la misma.

CHONDROGENIC CAPACITY OF PERIOSTEAL FREE GRAFTS FOR REPAIR OF ARTICULAR CARTILAGE DEFECTS

Summary.—An animal experimental study was designed in order to repair chondral defects of 8 mm. diameter, performed at the articular surface of the patella in adult rabbits. A total of 48 animals were operated. The control serie consisted of 24 animals in which the defect was not repaired. In other 24 animals, the defect was covered with a free tibial periosteal graft. Results were evaluated macro and microscopically at 1, 2, 4 and 8 weeks after surgery. In control cases, there were no spontaneous repair while in case with periosteal implantation, a new hyaline cartilage originated in the implanted tissue was observed. These findings demonstrated the chondrogenic capacity of periosteal free grafts for repair of articular surface defects.

INTRODUCCIÓN

La problemática de curación de las lesiones articulares deriva de la alta especialización y limitada capacidad de regeneración del tejido conectivo, constituyente del cartílago articular, con lo que se plantea la dificultad de conseguir un regenerado espontáneo capaz de suplir la función de absorción de fuerzas encomendadas a este tejido.

Múltiples trabajos demuestran que cuando la lesión del cartílago articular afecta parcialmente a su

grosor, no se evidencian signos de reparación e incluso aparecen signos de degeneración en las capas respetadas de dicho cartílago, pero cuando el defecto practicado en la superficie articular afecta a todo el espesor del cartílago y se extiende en profundidad, en el seno del tejido óseo subcondral el defecto es ocupado por un tejido de granulación que posteriormente sufre metaplasia a tejido fibrocartilaginoso e incluso se desarrolla una forma de cartílago (1-9) que involuciona a fibrocartílago al año de evolución (4), con persistencia de significativa cantidad de colágena I, lo que sugiere que no llega nunca a formarse auténtico cartílago articular (6).

En 1972, Skoog et al. (10) demostraron la capacidad condrogénica de injertos libres de pericondrio, que ha permitido su utilización en reconstruc-

Correspondencia:

Dr. ANDRÉS CARRANZA BENCANO
Santa Clara, 16, E° D
41002 Sevilla

Trabajo realizado con subvención a proyectos de investigación de la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía. Convocatoria de 1993.

ciones experimentales y clínicas de defectos de cartílago articular (10-22).

El periostio es mucho más abundante que el pericondrio y tiene el mismo origen embriológico, de tal modo que en su capa profunda ambos tejidos están compuestos por células mesenquimales indiferenciadas, por lo que es relativamente razonable la hipótesis que el periostio es capaz de producir cartílago o hueso.

Ham (1930) (23) fue el primero en mencionar la posibilidad de que las células del periostio se diferencien en condroblastos u osteoblastos dependiendo de las condiciones de su entorno durante el estadio embrionario y que ciertas células persistan en el organismo adulto con la potencialidad de estas indiferenciadas células mesenquimales. En este sentido, los trabajos *in vitro* realizados por Fell (24) y Basset (25) demuestran que la diferenciación de las células mesenquimales en osteoblastos se realiza a través de una interfase condral. Con suficiente presión parcial de oxígeno, en el cultivo de células mesenquimales, el 90% del tejido cartilaginoso se osifica, pero con baja o media presión parcial de oxígeno no se produce osificación y el tejido parece cartílago hialino embrionario.

Posteriormente numerosas publicaciones han mostrado esta dualidad de diferenciación de las células periósticas en estudios *in vitro* (26-32), así como el desarrollo de cartílago a partir de injertos de periostio como cuerpo libre intraarticular (33-36), lo que ha permitido el desarrollo de estudios experimentales (37-46) y clínicos (47-50) de reconstrucción de defectos osteocondrales con injertos libres de periostio.

Basándonos en estos trabajos, hemos planteado un modelo experimental en conejos, utilizando injertos de periostio tibial para cubrir defectos am-

plios y profundos de la superficie articular de la rótula, para poder estudiar la evolución de los mismos y poder aportar nuestra contribución personal al mejor conocimiento del proceso de condrogénesis.

MATERIAL Y MÉTODOS

Hemos utilizado un lote de 48 conejos, raza gigante español, variedad parda, de ambos sexos, con un peso aproximado de 2.000 a 2.600 g., que fue dividido en 2 series de 24 conejos cada una.

La serie I fue considerada como control y la lesión condral fue dejada a evolución espontánea. En la serie II, considerada como experimental, el área de cartílago denudado fue cubierta con injerto libre de periostio tibial. Cada serie, a su vez, fue dividida en 4 grupos de 6 animales cada uno, en base a la fecha de sacrificio de 1, 2, 4 y 8 semanas.

La inducción anestésica se realizó por vía intraperitoneal con ketamina (ketholar) a dosis de 40 mg/kg. de peso y thalamonal a dosis de 0,5 cc./kg. de peso, teniendo en cuenta que cada cc. de thalamonal contiene 2,5 mg. de droperidol y 0,05 de fentanyl.

La cirugía experimental consistió en la extirpación parcial del cartílago articular de la rótula, con «bellota» de 8 mm. de diámetro, hasta alcanzar el tejido óseo subcondral sangrante como única intervención en la serie control, mientras que en la serie experimental el área rotuliana denudada fue cubierta con plastia libre de periostio tibial, extraída de la cara interna del tercio superior de la tibia y fijada con puntos irreabsorbibles a través de perforaciones intraóseas, teniendo siempre la precaución de dirigir la capa profunda del periostio (lámina osteógena) hacia el tejido óseo patelar.

En el postoperatorio la extremidad fue inmovilizada con escayola, manteniendo la rodilla en flexión de 30°, permitiendo a los animales desplazarse libremente dentro de sus jaulas. Se decidió la inmovilización con escayola para evitar el desprendimiento de la plastia, por la fricción femorrotuliana durante la flexoextensión de la rodilla, y para impedir la luxación rotuliana y las autolesiones sobre la sutura cutánea. Se retiró la escayola a la

Tabla I: Resultados macroscópicos de la serie control

Grupo	A	B	C	D
Número de animales	6	5	4	3
<i>Rodilla</i>				
— Alteración morfológica	5	1	0	0
— Alteración funcional	5	1	0	0
<i>Rótula</i>				
— Alteración de tamaño	0	1	4	3
— Alteración de forma	0	1	0	0
— Presencia de úlcera	5	5	4	3
— Irregularidad de superficie articular	5	5	4	3

Tabla II: Resultados macroscópicos de la serie experimental

Grupo	A	B	C	D
Número de animales	0	4	0	0
<i>Rodilla</i>				
— Alteración morfológica	6	0	0	0
— Alteración funcional	6	0	0	0
<i>Rótula</i>				
— Alteración de tamaño	0	0	0	0
— Alteración de forma	0	0	0	0
— Presencia de plastia	0	4	0	0
— Fijación de plastia	0	4	0	0
— Irregularidad de superficie articular				

semana de la intervención para evitar las rigideces articulares secundarias a una larga inmovilización.

Los animales fueron sacrificados a intervalos de 1, 2, 4 y 8 semanas. Tras el sacrificio se efectuó la extracción de la rótula operada, limpiándola cuidadosamente de los tejidos vecinos, para realizar el estudio macroscópico de las piezas, practicando fotografías con cámara Nikon F-301, objetivo micro-Nikkor de 55 mm. y tubo de extensión Vivitar de 12 y 36 mm. sobre trípode e iluminación con antorcha Fefolux de 220 V y 1.000 W. Estas fotografías constituyen el documento gráfico del examen visual y fueron practicadas con el espécimen colocado sobre un plano duro horizontal. Tras la práctica de las mismas los especímenes fueron fijados en formol al 10%, decalcificados en ácido nítrico, procesados en parafina, obteniendo secciones de 5 micras para su tinción con hematoxilina-eosina. Los resultados obtenidos fueron valorados desde el punto de vista macro y microscópico.

RESULTADOS

Un grupo de 6 animales murieron antes de la fecha de sacrificio con cuadro diarreico y un conjunto de 3 rodillas presentaban signos de infección antes o en el momento del sacrificio, por lo que fueron desechadas. Por todo ello, valoramos los resultados obtenidos en 39 animales que alcanzaron la fecha de sacrificio sin signos de infección.

Estudios macroscópicos

No apreciamos alteraciones ni en la forma ni en el cartílago articular a nivel de cóndilos femorales, tanto en la serie control como en la experimental, por lo que en la descripción de los resultados macroscópicos nos limitaremos a los hallazgos obtenidos a nivel de la patela después de valorar los signos generales de la rodilla operada.

Serie I (control)

Todos los animales sacrificados a la semana (grupo A) presentaban engrosamiento y rigidez de la rodilla tras la extracción del yeso postoperatorio. Las

Tabla III: Resultados histológicos de la serie control

Grupo	A	B	C	D
Número de animales	5	5	4	3
Tejido de granulación	3	3	0	0
Proliferación de células:				
— Mesenquimales	0	0	4	3
— Condroides	0	0	0	0
Formación de tejido fibroso	0	0	4	3
Formación de fibrocartilago	0	0	4	3
Formación de cartilago hialino	0	0	0	0

rótulas de tamaño y forma normal exhibían la úlcera en su superficie articular, rellena parcial e irregularmente por tejido rojo oscuro.

Uno de los animales sacrificados a las 2 semanas (grupo B) presentaba luxación externa de la rótula, con la consiguiente deformidad y alteración funcional de la rodilla. Su rótula estaba deformada y con contornos irregulares, mostrando la úlcera en su superficie articular. El resto de los conejos no presentaba alteración morfológica ni funcional de la rodilla operada y las rótulas ligeramente aumentadas de tamaño presentaban igualmente la úlcera en su superficie articular, con un aspecto semejante al grupo A.

Todos los animales sacrificados a las 4 semanas (grupo C) presentaban forma y función normal de la rodilla y las rótulas grandes y de contornos irregulares mostraban todavía la úlcera en su superficie articular, con marcada depresión y concavidad rellena por tejido grisáceo.

Las rodillas de los animales sacrificados a las 8 semanas (grupo D) presentaban una morfología y función normal. La superficie articular rotuliana deprimida mostraba un tejido blanquecino con focos de hemorragia, relleno de la úlcera, apreciándose un límite claro entre dicho tejido y el cartílago remanente.

Serie II (experimental)

Los animales sacrificados a la semana (grupo A), tras la extracción del yeso postoperatorio, presentaban engrasamiento y rigidez de la rodilla, secunda-

Tabla IV: Resultados histológicos de la serie experimental

Grupo	A	B	C	D
Número de animales	6	4	6	6
Presencia del injerto	6	4	0	0
Continuidad del injerto o tejido neoformado con:				
— Cartilago articular	0	4	6	6
— Hueso	0	3	6	6
— Médula ósea	6	4	6	6
Cambios de injerto:				
— Tejido de granulación	0	0	0	0
— Proliferación de células:				
• Mesenquimales	6	4	0	0
• Condroides	0	4	0	0
— Formación de tejido fibroso	6	4	6	0
— Formación de fibrocartilago	0	0	6	6
— Formación de cartilago hialino	0	0	6	6

ria a la inmovilización. En ningún caso se apreciaron alteraciones del tamaño o forma de la rótula y en todas ellas la úlcera se presentaba perfectamente cubierta por la plastia, de color blanquecino.

De los animales sacrificados a las 2 semanas (grupo B) todos habían recuperado la función completa de la rodilla intervenida. Las rótulas mostraban un tamaño y forma normal, estando su superficie regular y la úlcera cubierta por la plastia, de color blanquecino, fuertemente adherida.

Todos los animales sacrificados a las 4 semanas (grupo C) mostraban una flexoextensión normal de la rodilla operada, sin alteraciones morfológicas de las mismas. Las rótulas estaban discretamente agrandadas y redondeadas y la superficie articular era regular y brillante, no observándose la presencia de la plastia, aunque sí el límite de la úlcera, por la opacidad del tejido neoformado.

Al igual que en el grupo anterior, los animales sacrificados a las 8 semanas de la intervención (grupo D) no presentaban alteraciones morfológicas ni funcionales de las rodillas operadas. Las rótulas agrandadas presentaban la superficie articular regular y totalmente reintegrada, con coloración blanca, nacarada y brillante, de aspecto semejante al cartílago articular normal, siendo difícil distinguir el límite de la úlcera.

Estudios histológicos

Serie I (control)

Todos los animales del grupo A presentaban, en la zona de la úlcera, el hueso esponjoso subcondral recubierto por coágulo fibrinohemático y en 3 animales la existencia de tejido de granulación.

Mientras que a las 2 semanas (grupo B) se advertía cómo dicho hueso esponjoso subcondral aparecía cubierto por fibrina organizada y en 3 casos existía tejido de granulación.

A las 4 semanas (grupo C) aparecía recubierto por focos de tejido fibroso, junto con áreas de hueso denudado.

Y a las 8 semanas (grupo D), en la zona de la úlcera, el hueso esponjoso subcondral estaba recubierto por tejido fibroso, con áreas de fibrocartílago.

Serie II (experimental)

A la semana (grupo A) en todos los animales aparecían las úlceras condrales cubiertas por los in-

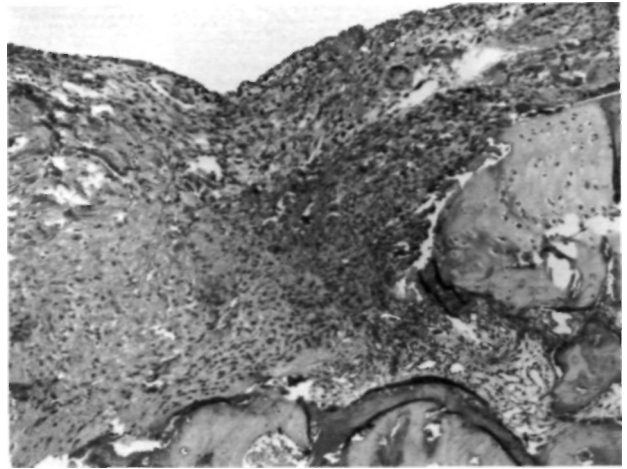


Figura 1. Proliferación de células mesenquimales en el seno de la plastia a la semana (HE, 63x) (serie II, grupo A).

jertos, en continuidad con la médula ósea, mostrando proliferación de células mesenquimales en sus capas internas en el seno de un tejido fibroso (Fig. 1).

Dichas úlceras condrales, a las 2 semanas (grupo B), estaban cubiertas por los injertos en continuidad con el cartílago articular, hueso subcondral y médula ósea. Y dichos injertos presentaban proliferación de células condroides predominantemente y mesenquimales inmersas en un tejido fibroso, con formación de fibrocartílago (Fig. 2).

A las 4 semanas (grupo C) todas las úlceras condrales estaban cubiertas por un fibrocartílago (Fig. 3) unido al cartílago articular, existiendo en su capa profunda focos de cartílago hialino, con

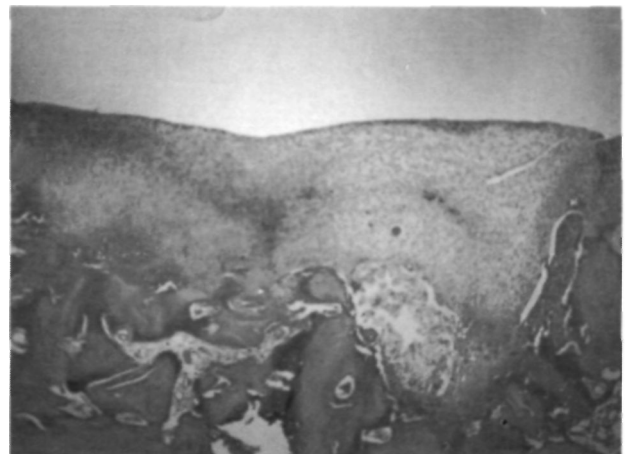


Figura 2. Injerto acoplado a la úlcera en continuidad con el hueso subcondral y la médula ósea, con proliferación de células condroides y formación de fibrocartílago a las 2 semanas (HE, 25x) (serie II, grupo B).

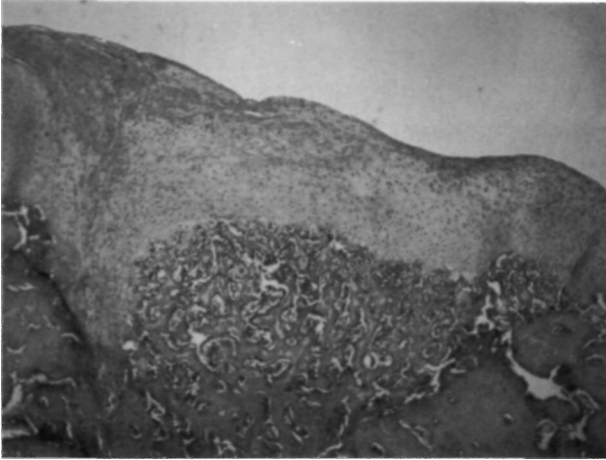


Figura 3. Fibrocartílago neoformado a las 4 semanas (HE, 25x) (serie II, grupo C).

osificación endocondral trabecular que se continuaba con el hueso subcondral (Fig. 4).

A las 8 semanas (grupo D) las úlceras aparecían cubiertas por un cartílago hialino de grosor superior al original, con rica actividad celular y osifica-

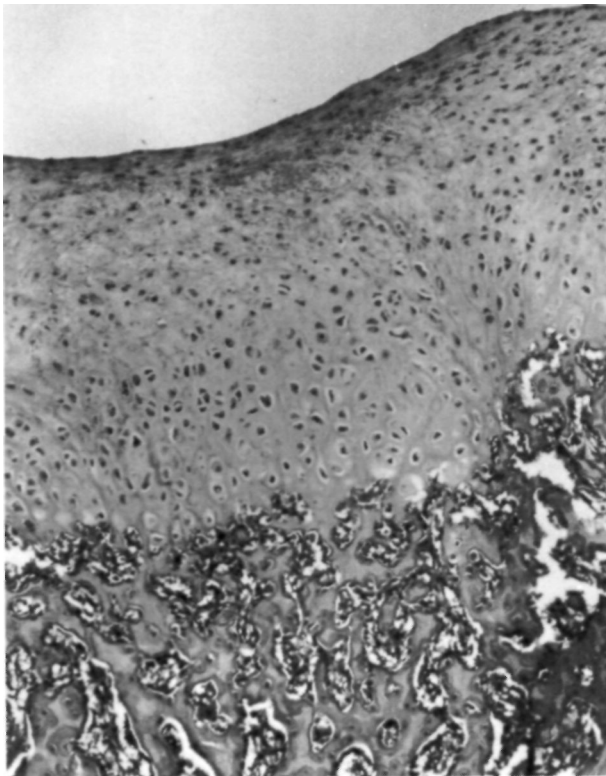


Figura 4. Presencia de cartílago hialino con osificación endocondral en la zona profunda del fibrocartílago neoformado a las 4 semanas (HE, 63x) (serie II, grupo C).

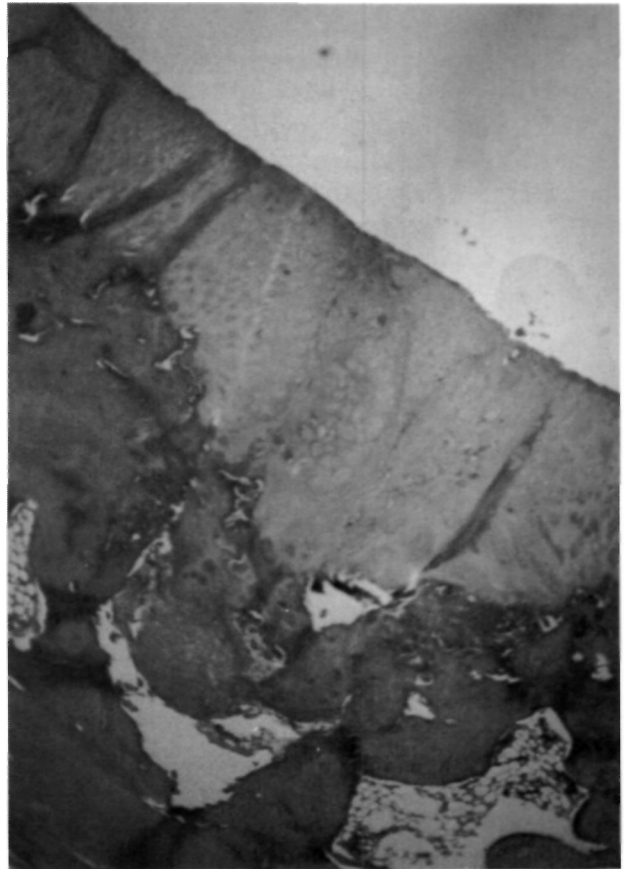


Figura 5. Cartílago hialino neoformado a las 8 semanas, de espesor superior al original (HE, 25x) (serie II, grupo D).

ción endocondral trabecular en su capa profunda (Fig. 5).

DISCUSIÓN

El presente trabajo forma parte de una línea de investigación (22, 51-54) que pretende estudiar la capacidad condrogénica de diversos tejidos biológicos. En él estudiamos la capacidad de regeneración espontánea de lesiones amplias y profundas del cartílago articular rotuliano y la neoformación de cartílago hialino a partir de injertos libres de periostio tibial.

Coincidiendo con otros estudios (2, 22, 37-40, 42, 54, 55) en nuestro trabajo experimental, comprobamos la limitada capacidad de reparación de las lesiones profundas y amplias del cartílago hialino articular, de tal modo que a los 2 meses de evolución las úlceras condrales de la serie control se presentaban parcialmente rellenas de tejido fibroso y fíbrocartilaginoso, en consonancia con los trabajos de Rubak et al. (37-39) con el hueso subcondral casi totalmente denudado, con gruesas trabéculas y

fibrosis medular, con aspecto similar al de la osteoartritis, en coincidencia con autores como Jaroma y Ritsila (40) y Engkvist (13). Esta escasa capacidad condrogénica, en contraposición a otros estudios (1, 3-6, 8, 9), debe estar en relación con el tamaño de la lesión (2, 42) y con la raza de los animales sujetos de la investigación.

Hemos posicionado sistemáticamente los injertos de periostio con su capa activa u osteógena dirigida hacia el hueso subcondral porque, a pesar de que O'Driscoll et al. (41) encuentran en esta posición menor capacidad condrogénica, Jaroma y Ritsila (40) no observan marcadas diferencias a las 20 semanas y Kulick et al. (16) han establecido, igualmente, que la orientación no es factor importante en la formación cartilaginosa desde injertos libres de pericondrio.

Los animales fueron inmovilizados con la rodilla en flexión de 30° para evitar las autolesiones sobre la herida operatoria y el desprendimiento de los injertos, pues Jaroma y Ritsila (40) reportaron que en 4 de 10 animales no inmovilizados los injertos fueron encontrados como cuerpos libres articulares, sufriendo diferenciación a tejido condroide, corroborando las observaciones de O'Driscoll y Salter (35). Además, Rubak et al. (38) reconocen que podría esperarse mejor proliferación del injerto si la articulación fuera inmovilizada durante unos días para asegurar la firmeza de la fijación de la plastia al área receptora y Jaroma y Ritsila (40) no encuentran repercusión en la capacidad condrogénica por la inmovilización durante 6 días, aunque los trabajos de Salter et al. (41-46) destacan el valor del movimiento pasivo continuo en el proceso de condrogénesis.

La inmovilización sólo se mantuvo durante 1 semana para evitar las rigideces articulares y el desarrollo de cambios degenerativos en el cartílago articular, ya que ha sido probado el desarrollo de artritis degenerativa experimental utilizando métodos de inmovilización (56, 57). Posteriormente se permitió a los animales desarrollar libremente su actividad articular, dada la importancia de dicha función, como factor que contribuye a la formación cartilaginosa (35, 41-46).

Macroscópicamente los injertos eran identificables sobre la superficie rotuliana hasta las 2 semanas, mientras que a las 4 y 8 dicha superficie articular aparecía cubierta de un tejido blanco opaco a las 4 semanas y transparente a las 8, de gran semejanza al cartílago articular normal, hasta el pun-

to de resultar difícil distinguir la primitiva úlcera condral.

La patela se encontró aumentada de tamaño a partir de la cuarta semana. Jaroma y Ritsila (40) atribuyen este hecho a la influencia en el crecimiento de las pequeñas perforaciones realizadas en la rótula para anclaje de la plastia, pero la razón del agrandamiento patelar habrá que buscarla en la influencia sobre el crecimiento de la propia plastia o en la lesión del tejido óseo subcondral, ya que esta deformidad también fue observada en los casos control.

Histológicamente demostramos la evolución del injerto de periostio tibial hacia tejido cartilaginoso, de tal manera que a las 8 semanas las lesiones estaban cubiertas por cartílago hialino, de apariencia histológica normal, no existiendo límite claro de separación entre el cartílago remanente y el neoformado a partir de la plastia.

Estos resultados son similares a los de Rubak et al. (38) que estudiaron las propiedades de injertos libres de periostio, trasplantados a defectos experimentales del cartílago del cóndilo femoral de conejos, obteniendo relleno con tejido de gran semejanza al cartílago hialino, tanto en las lesiones superficiales como en las profundas. Igualmente estos descubrimientos están de acuerdo con Jaroma y Ritsila (40), que consiguieron regeneración del cartílago articular rotuliano desde injertos libres de periostio y en consonancia con la capacidad condrogénica de dichos injertos demostrada por los trabajos de Salter et al. (41-46) bajo la influencia del movimiento pasivo continuo.

El origen del tejido cartilaginoso neoformado parece que procede del injerto libre de periostio, y presumiblemente desde las células indiferenciadas de su capa germinativa, dada la escasa capacidad condrogénica de los defectos no injertados. En este sentido, Ruback et al. (38) concluyeron que el tejido regenerado, en su modelo experimental, procedía del injerto de periostio, aunque el filtro de nucleopore utilizado para aislar el tejido regenerado se rompió entre las 4 y 8 semanas, y Zarnett et al. (43) demostraron, mediante marcaje con thymidina tritiada, que toda la masa de tejido neoformado (aparte del inmediatamente adyacente al hueso subcondral) se originó en las células del injerto de periostio.

La neoformación de cartílago hialino se realizó siguiendo una clara secuencia, que se inició por la

proliferación de las células mesenquimales de la capa profunda u osteógena del periostio, que se objetivó en los animales sacrificados a la semana. A las 2 semanas se mantuvo la proliferación de células mesenquimales, pero predominaron las células condroides y la formación de tejido fibrocartilaginoso. A las 4 semanas junto al fibrocartílago se desarrolló cartílago hialino, con osificación endocondral en profundidad, de tal modo que a las 8 semanas los defectos se presentaban cubiertos por cartílago hialino, de mayor espesor que el original, al que se fueron igualando por la transformación ósea, por osificación endocondral, de las capas más profundas.

De esta forma, la base de los defectos se rellenó con tejido óseo, con función de soporte de la capa articular superficial, de tal modo que el cartílago regenerado intentó alcanzar el mismo grosor que el original. La razón para que el cartílago articular no sufra reemplazamiento óseo debe estar en relación con las demandas funcionales a que está sometido el cartílago que recubre la superficie articular. Este fenómeno fue también observado por Meachin y Roberts (1) y Mitchell y Shepard (4), que estudiaron la curación de perforaciones realizadas a través del hueso subcondral, encontrando que el tejido de reparación en la base del defecto fue progresivamente reemplazado por hueso, pero no en el área superficial. El tejido comprendía tejido fibroso, te-

jido condroide y placa focal de cartílago, mientras que en nuestro trabajo una lámina continua de cartílago hialino cubrió la parte superior de la lesión.

Además, es posible que en las fases iniciales los injertos puedan recibir alguna nutrición desde el hueso subcondral en la parte profunda del defecto, determinando el desarrollo de la osificación endocondral, ya que la vascularización es un prerequisite para la osteogénesis y O'Driscoll y Salter (33) comprobaron que todos los injertos intraarticulares libres de periostio que llegaron a tener vascularización producían hueso por osificación intramembranosa o endocondral.

Se puede concluir que el injerto de periostio tiene capacidad para generar cartílago, pero la diferenciación de este tejido básico a cartílago hialino dependerá de factores extrínsecos, emanados de su entorno, y en este sentido la permanencia de la función articular, la pobre vascularización con baja tensión parcial de oxígeno y la capacidad de nutrición del líquido sinovial podrían favorecer este desarrollo.

La interpretación de los resultados de este trabajo está limitada por la falta de estudios histoquímicos, bioquímicos y ultraestructurales y por el corto seguimiento de 8 semanas que constituyen el futuro de nuestras investigaciones.

Bibliografía

1. Meachin C, Roberts C. Repair of the joint surface from subarticular tissue in rabbit knee. *J Anat* 1971; 109: 317-27.
2. Convery FR, Akenson WH, Keown GH. The repair of large osteochondral defects. An experimental study in horses. *Clin Orthop* 1972; 82: 253-63.
3. Salter RB, Simmons DF, Malcom BM, Rumble EJ, McMichael D. The effects of continuous passive motion on the healing of articular cartilage defects. *J Bone Joint Surg* 1975; 57A: 570-1.
4. Mitchell N, Shepard NC. The resurfacing of adult. Rabbit articular cartilage by multiple perforation through the subcondral bone. *J Bone Joint Surg* 1976; 58A: 230-3.
5. Salter RB, Simmons DF, Malcom BW, Rumble EJ, McMichael D, Clements ND. The biological effects of continuous passive motion on the healing of full thickness defects in articular cartilage. *J Bone Joint Surg* 1980; 62A: 1232-51.
6. Furukawa T, Eyre DR, Koide S, Climcher MJ. Biochemical studies on repair cartilage resurfacing experimental defects in the rabbit knee. *J Bone Joint Surg* 1980; 62A: 79-89.
7. Mankin HJ. The response of articular cartilage, to mechanical injury. *J Bone Joint Surg* 1982; 64A: 460-5.
8. Salter RB, Minster RP, Clements N, Bogoch E, Bell RS. Continuous passive motion and the repair of full-thickness articular cartilage defects. A one year follow-up. *Orthop Trans* 1982; 6: 266-7.
9. Kim HKW, Moran ME, Salter RB. The potential for regeneration of articular cartilage in defects created by chondral shaving and subchondral abrasion. An experimental investigation in rabbits. *J Bone Joint Surg* 1991; 73A: 1301-15.
10. Skoog J, Ohlsen L, Sohn SA. Perichondrial potential free cartilagenous regeneration. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1972; 6: 123-5.
11. Engkvist O, Johansson SH, Ohlsen L, Skoog T. Reconstruction of articular cartilage using autologous perichondrial grafts. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1975; 9: 203-6.
12. Skoog T, Johansson SH. The formation of articular cartilage free perichondrial grafts. *J Plast Reconstr Surg* 1976; 57: 1-6.
13. Engkvist O. Reconstruction of patellar articular cartilage with free autologous perichondrial grafts. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1979; 13: 361-9.
14. Engkvist O, Skoog V, Pastacaldi P, Yormuk E, Juhlin R. The cartilaginous potential of the perichondrium in rabbit ear and rib. A comparative study *in vivo* and *in vitro*. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1979; 13: 275-80.
15. Huid I, Andersen L. Perichondrial autografts in traumatic chondromalacia patellae: Report of a case. *Acta Orthop Scand* 1981; 52: 91-3.

16. **Kulick MI, Brent B, Ross J.** Free perichondrial graft from the ear to the knee in rabbits. *J Hand Surg* 1984; 9A: 213-5.
17. **Homminga GN, Van der Linden TJ, Terwindt-Rouwenhorst EA, Drukker J.** Repair of articular defects by perichondrial grafts: Experiments in the rabbit. *Acta Orthop Scand* 1989; 60: 326-9.
18. **Billings E, Von Schroeder MP, Mai MT, Aratow M, Amiel D, Woo S, Coutts RD.** Cartilage resurfacing of the rabbit knee. The use of an allogenic demineralized bone matrix-autogenic perichondrium composite implant. *Acta Orthop Scand* 1990; 61: 201-6.
19. **Homminga GN, Bulstra SK, Bouwmeester PSM, Van der Linden AJ.** Perichondrial grafting for cartilage lesions of the knee. *J Bone Joint Surg* 1990; 72B: 1003-7.
20. **Homminga GN, Bulstra SK, Kuijter R, Van der Linden AJ.** Repair of sheep articular cartilage defects with a rabbit costal perichondrial graft. *Acta Orthop Scand* 1991; 62: 415-8.
21. **Coutts RD, Woo SL, Amiel D, Von Schroeder HP, Kwan MK.** Rib perichondrial autografts in full-thickness articular cartilage defects in rabbits. *Clin Orthop* 1992; 275: 263-73.
22. **Ballesteros Vázquez P, Carranza Beneano A, Armas Padrón JR, Sáenz López de Rueda, F.** Reparación del cartílago articular con injerto libre de pericondrio. Estudio experimental. *Rev Esp Cir Osteoart* 1994; 29: 57-65.
23. **Ham AW** (1930). Citado por O'Driscoll y Salter, 1984 (33).
24. **Fell HB.** The osteogenic *in vitro* of periosteum and endosteum isolated from the limb skeleton of fowl embryos and young chicks. *J Anat* 1932; 66: 175-80.
25. **Basset CAL.** Current concepts of bone formation. *J Bone Joint Surg* 1962; 44A: 1217-44.
26. **Uchida A, Kikuchi T, Shimomura Y.** Osteogenic capacity of cultured human periosteal. *Acta Orthop Scand* 1988; 59: 29-33.
27. **Nakahara H, Bruder SP, Haynesworth SE, Hotecek JJ, Baber MA, Goldberg VM, Caplan AT.** Bone and cartilage formation in diffusion chambers by subcultured cells derived from the periosteum. *Bone* 1990; 11: 181-8.
28. **Nakahara H, Goldberg VM, Caplan AT.** High cell density cultured as a test for osteo-chondrogenic potential of periosteal derived cells. *Trans Orthop Res Soc* 1990; 15: 386.
29. **Izumi T, Scully SP, Heydemann A, Joyce ME, Bolander ME.** Transforming growth factor-B (TGF-B) induces type III collagen gene expression in cultures of periosteal cells. *Orthop Trans* 1991; 15: 406-7.
30. **Nakahara H, Dennis JE, Bruder SP, Haynesworth SE, Lennon DP, Caplan AT.** *In vitro* differentiation of bone and hypertrophic cartilage from periosteal-derived cells. *Exper Cell Res* 1991; 195: 492-503.
31. **O'Driscoll SW, Recklies AD, Poole AR.** Chondrogenesis in periosteal explants. An organ culture model for *in vitro* study. *J Bone Joint Surg* 1994; 76A: 1042-51.
32. **Iwasaki M, Nakahara H, Nakata K, Nakase T, Kimura T, Ono K.** Regulation of proliferation and osteochondrogenic differentiation of periosteum-derived cells by transforming growth factor B and basic fibroblast growth factor. *J Bone Joint Surg* 1995; 77A: 543-54.
33. **O'Driscoll SW, Salter RB.** The induction of neochondrogenesis in free intra-articular periosteal autografts under the influence of continuous passive motion. An experimental investigation in the rabbit. *J Bone Joint Surg* 1984; 66A: 1248-57.
34. **Jaroma HJ, Tittsila VA.** Effect of diffusion chamber pore size on differentiation and proliferation of periosteal cell. An experimental study. *Clin Orthop* 1988; 236: 258-64.
35. **Delaney JP, O'Driscoll SW, Salter RB.** Neochondrogenesis in free intra-articular periosteal autograft in an immobilised and paralysed limb. An experimental investigation in the rabbit. *Clin Orthop* 1989; 248: 278-81.
36. **Poussa M, Rubak JM, Ritsila V.** Differentiation of the osteochondrogenic cells of the periosteum in chondrotrophic environment. *Acta Orthop Scand* 1981; 52: 235-9.
37. **Rubak JM.** Reconstruction of articular cartilage defects with free periosteal grafts. An experimental study. *Acta Orthop Scand* 1982; 53: 175-80.
38. **Rubak JM, Poussa M, Ritsila V.** Chondrogenesis in repair of articular cartilage defects by free periosteal grafts in rabbits. *Acta Orthop Scand* 1982; 53: 181-6.
39. **Rubak JM, Poussa M, Ritsila V.** Effects of joint motion on the repair of articular cartilage with free periosteal grafts. *Acta Orthop Scand* 1982; 53: 187-91.
40. **Jaroma HJ, Ritsila VA.** Reconstruction of patellar cartilage defects with free periosteal grafts. *Scand J Plast Reconst Surg* 1987; 21: 175-81.
41. **O'Driscoll SW, Keeley FW, Salter RB.** The chondrogenic potential of free autogenous periosteal graft for biological resurfacing of major full-thickness defects in joint surfaces under the influence of continuous motion. An experimental investigation in rabbit. *J Bone Joint Surg* 1986; 68A: 1017-35.
42. **O'Driscoll SW, Salter RB.** The repair of major osteochondral defects in joint surfaces by neochondrogenesis with autogenous osteoperiosteal graft stimulated by continuous passive motion. An experimental investigation in the rabbit. *Clin Orthop* 1986; 208:131-40.
43. **Zarnett R, Delaney JP, O'Driscoll SV, Salter RB.** Cellular origin and evolution of neochondrogenesis in major full-thickness defects of a joint surface treated by free autogenous periosteal graft and subjected to continuous passive motion in rabbits. *Clin Orthop* 1987; 222: 267-74.
44. **O'Driscoll SW, Keeley FW, Salter RB.** Durability of regenerated articular cartilage produced by free autogenous periosteal grafts in major full-thickness defects in joint surfaces under the influence of continuous passive motion. A follow-up report at one year. *J Bone Joint Surg* 1988; 70A: 595-606.
45. **Moran ME, Kim HK, Salter RB.** Biological resurfacing of full-thickness defects in patellar articular cartilage of the rabbit. Investigation of autogenous periosteal grafts subjected to continuous passive motion. *J Bone Joint Surg* 1992; 74B: 659-67.
46. **Kreder H, Moran M, Keeley FW, Salter RB.** Biological resurfacing of a major joint defect with cryopreserved allogenic periosteum under the influence of continuous motion in a rabbit model. *Clin Orthop* 1994; 300: 288-96.
47. **Niederman B, Boe S, Lauritzen J, Ruback JM.** Glued periosteal grafts in the knee. *Acta Orthop Scand* 1985; 56: 457-60.
48. **Hoikka VEJ, Jaroma HJ, Ritsila VA.** Reconstruction of the patellar articulation with periosteal graft. Four-year follow-up of 13 cases. *Acta Orthop Scand* 1990; 61: 36-9.

49. **Jensen LJ, Bach KL.** Periosteal transplantation in the treatment of osteochondritis dissecans. *Scand J Med Sci Sports* 1992; 2: 32-6.
50. **Angerman P, Riegels-Nielsen P.** Osteochondritis dissecans of the femoral condyle treated with periosteal transplantation. A preliminary clinical study of 14 cases. *Orthop Inter Ed* 1994; 2: 425-8.
51. **Carranza Bencano A, Armas Padrón JR, Jiménez Fernández A, Ballesteros Vázquez P, Flores Gallego FJ.** Capacidad condrogénica de injertos libres de periostio y pericondrio e injertos pediculados de sinovial: Estudio experimental en conejos. *Rev S And Traum Ort* 1989; 9: 19-25.
52. **Carranza Bencano A, Armas Padrón JR, Pérez-Tinao Gómez de Salazar M, Ballesteros Vázquez P, Jiménez Fernández A, Flores Gallego FJ, Casas Ruiz M, Sáenz López de Rueda, F.** Injertos de periostio tibial en la reconstrucción de defectos parciales y totales del cartílago articular rotuliano. Estudio experimental en conejos. *Mem Ac Real Academia de Medicina y Cirugía de Sevilla*, 1989; 61-5.
53. **Ballesteros Vázquez P.** Injertos libres autólogos de pericondrio costal en la reparación de defectos del cartílago articular. Estudio experimental en conejos. Tesis doctoral. Facultad de Medicina. Universidad de Sevilla, 1990.
54. **Pérez-Tinao Gómez de Salazar.** Capacidad condrogénica de injertos libres de periostio en la reparación de defectos del cartílago articular. Estudio experimental en conejos. Tesis doctoral. Facultad de Medicina. Universidad de Sevilla, 1992.
55. **Takahashi S, Oka M, Kotoura Y, Yamamuro T.** Autogenous callo-osseus graft for the repair of osteochondral defects. *J Bone Joint Surg* 1995; 77B: 194-204.
56. **Salter RB, Field P.** The effects of continuous compression on living articular cartilage. *J Bone Joint Surg* 1960; 42A: 31-49.
57. **Langenskiöld A, Michelsson JE, Videman T.** Osteoarthritis of the knee in the rabbit produced by immobilization. *Acta Orthop Scand* 1979; 50: 11-4.