

Efecto de los factores de crecimiento autólogos en las lesiones radiales del cuerno posterior del menisco externo en la rodilla del conejo: un modelo experimental

Dr. Rolando Espitia Concha*, Dr. Daniel Saavedra Pava**, Dr. Elkin Meyer Silio***

* Ortopedista, Universidad El Bosque. Cirujano de rodilla, Fundación Oftalmológica de Santander (FOSCAL), Bucaramanga, Colombia.

** Ortopedista, Universidad El Bosque. Profesor, Programa de Ortopedia, Universidad El Bosque, Bogotá, Colombia.

*** Ortopedista, Universidad El Bosque. Cirujano de rodilla, Clínica El Bosque, Bogotá, Colombia.

Correspondencia:

Dr. Rolando Espitia Concha
Cra. 47A No. 52-32, Bucaramanga, Colombia.
Tel. (577) 6382828, Cel. 3002414938
rolandoec@hotmail.com

Fecha de recepción: 28 de febrero de 2011

Fecha de aprobación: 3 de junio de 2011

Resumen

Introducción: en la actualidad, la reparación de las lesiones de menisco en el hiato del poplíteo tienen mal pronóstico y su recuperación es lenta. El objetivo de este estudio es determinar el efecto que tienen los factores de crecimiento autólogos en la reparación de las lesiones radiales del cuerno posterior del menisco externo en la rodilla del conejo.

Materiales y métodos: se diseñó un estudio experimental doble ciego y autocontrolado de conejos a los cuales se les realizan lesiones radiales en el cuerno posterior del menisco lateral a la altura del hiato poplíteo y se aplican factores de crecimiento autólogos a una de las rodillas (grupo experimental) y plasma pobre en plaquetas a la otra rodilla (grupo control) del mismo conejo. Los meniscos se estudiaron a las 3 y 6 semanas tanto macroscópicamente como bajo visión microscópica.

Resultados: se encontraron diferencias entre los meniscos intervenidos con factores de crecimiento y los meniscos de control a favor del grupo experimental. La aplicación de factores de crecimiento autólogos en lesiones de menisco en el conejo mejoró tanto el número de resoluciones como el tiempo de cicatrización de las lesiones.

Discusión: es necesario el diseño de nuevos trabajos en humanos utilizando los factores de crecimiento en lesiones meniscales complejas para obtener resultados más objetivos que permitan dar recomendaciones acerca de su uso y poder en un futuro cambiar el protocolo de rehabilitación, en especial en deportistas de alto rendimiento.

Palabras clave: péptidos y proteínas de señalización intercelular, conejos, meniscos tibiales.

[Rev Col Or Tra 2011; 25(3): 291-97]

Abstract

Introduction: Currently, meniscal injuries at the popliteal hiatus have a poor prognosis after surgical treatment, while patients almost always expect a long time recovery.

Methods: We performed an experimental self-controlled double-blind study, by performing a radial injury at the posterior horn of the lateral meniscus at the popliteal hiatus in both knees of 18 rabbits. We apply autologous growth factors and platelet-poor plasma to the study group knees whereas the control group did not received it. Both meniscal injuries (study and control groups) were reconstructed by an open technique with an inside – out stitch. Follow up of the specimens were performed at 3 and 6 weeks with a macroscopic and microscopic examination in order to detect differences between the groups.

Results: Significant differences were found out favoring growth factors as healers for meniscal injuries.

Discussion: A study on humans should be conducted, as the use of autologous growth factors is safe, and it's behave as a healer with an inside – out meniscal stitch is great.

Key words: Intercellular signaling peptides and proteins, rabbits, menisci tibial.

[*Rev Col Or Tra* 2011; 25(3): 291-97]

Introducción

En la actualidad es de gran interés tanto la eficacia como la velocidad de la regeneración de las reparaciones de lesiones meniscales porque implica para los pacientes largos tiempos de no apoyo generando unos periodos de incapacidad prolongados y sin certeza de la resolución de la lesión, sobre todo en algunos sitios específicos como el cuerno posterior del menisco lateral (1, 2). Se pretende mostrar con este trabajo la utilidad y ayuda de los factores de crecimiento (PRP) al mejorar y hacer más veloz la reparación de la solución de continuidad de los meniscos, permitiendo un pronto reintegro a las labores con un menisco reparado.

En las lesiones meniscales, los peores resultados son los observados en las lesiones radiales completas del menisco externo en el hiato poplíteo, por su precaria vascularización (1, 2). Cuando se acompañan de ruptura del ligamento cruzado anterior se ha observado una aumentación y facilitación biológica de la reparación por el coágulo debido al sangrado en la articulación.

El estándar de oro en la reparación de estas lesiones es la sutura, ya que se ha demostrado en diversos estudios que las características biomecánicas del menisco en la función de la rodilla son indispensables para la sobrevivencia de la articulación, evitando una artrosis temprana (3). Esta necesidad de reparación ha llevado a los investigadores a encontrar nuevas técnicas artroscópicas e implementos tecnológicos que permitan realizar el procedimiento con los mejores

resultados, aún en los casos de lesiones de menisco que se pensaban irreparables. De esta manera, la biotecnología nos ha entregado una herramienta viable, económica y disponible para mejorar los resultados de la reparación de las lesiones de menisco, ya que la rerruptura o los defectos de cicatrización se encuentran entre el 10 % y el 30 % en las mejores series (3, 4). Ese avance biotecnológico son los factores de crecimiento autólogos que están disponibles en nuestro medio.

El objetivo de este estudio es determinar el efecto que tienen los factores de crecimiento autólogos en la reparación de las lesiones radiales del cuerno posterior del menisco externo en la rodilla del conejo.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio experimental, autocontrolado y doble ciego en 18 conejos raza Nueva Zelanda (36 rodillas). Los conejos fueron llevados a cirugía para realizarles una lesión meniscal en el cuerno posterior del menisco lateral y en el mismo acto quirúrgico se les inoculó una preparación de factores de crecimiento autólogos en una rodilla (grupo experimental) y plasma pobre en plaquetas en la otra (grupo control) (figura 1). La asignación de las rodillas a los grupos se hizo de manera aleatoria por medio de balotas. Después de 3 o 6 semanas de seguimiento, se extrajeron los meniscos y se evaluó la calidad de su cicatrización tanto macro como microscópicamente.

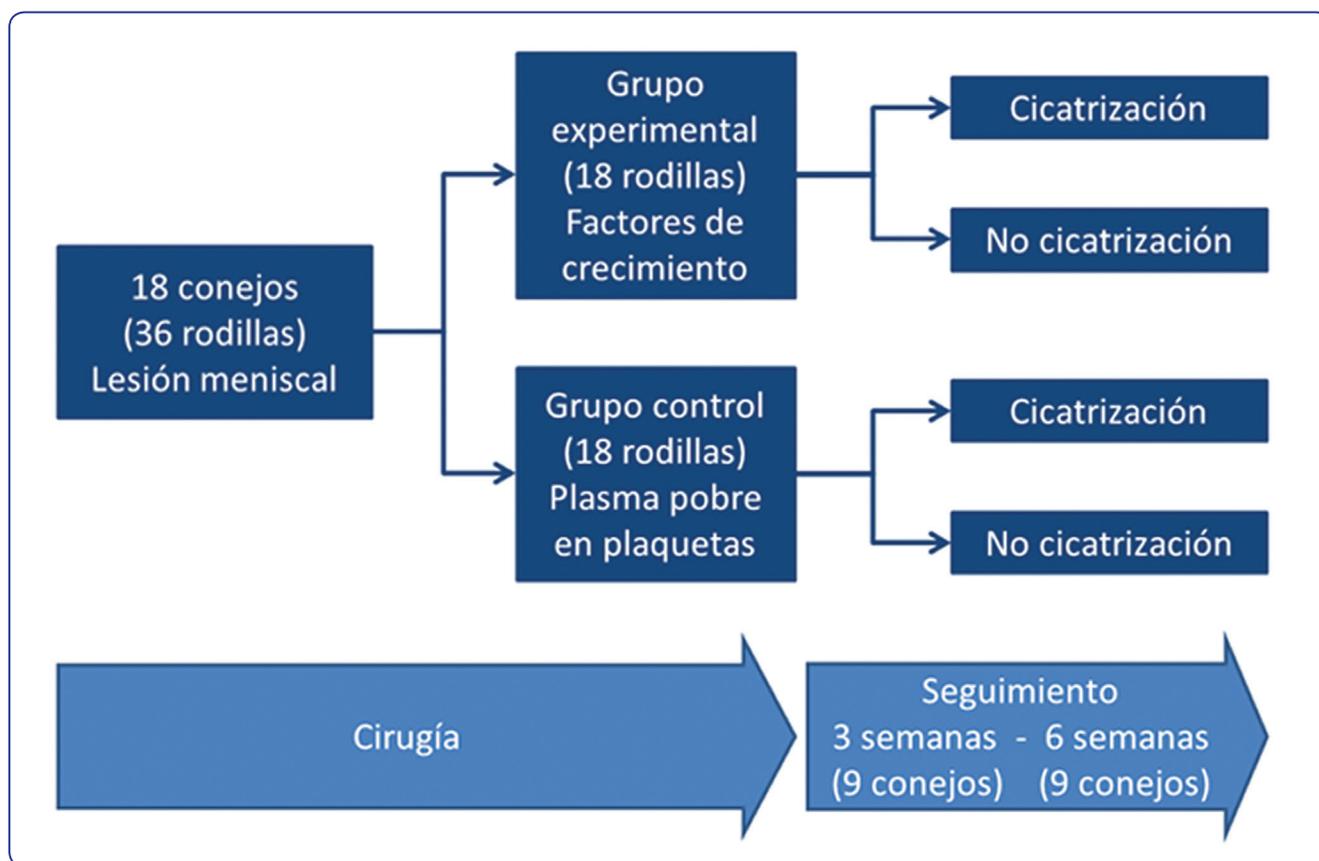


Figura 1. Diseño del experimento.

Se incluyeron conejos con peso entre 950 y 1150 gramos, con una edad de 3 o más semanas. Se excluyeron los conejos en cuyas rodillas se encontraran signos macroscópicos de artrosis en el momento de realizar la inoculación y los conejos que se encontraran en mal estado general en el momento de realizar la cirugía (valoración veterinaria).

El tamaño de la muestra se calculó tomando un nivel de confianza α de 0,5 y una potencia β de 0,8 con una prevalencia en el grupo tratado de 0,8 y de 0,1 en el grupo control, para una razón de 8 entre tratados y no tratados. Se utilizó la fórmula simplificada de cálculo con un grupo control para estudios experimentales con distribuciones en H. El resultado del cálculo fue de 9 rodillas (lesiones meniscales) en cada grupo.

Para esta investigación se utilizó un doble ciego: en el momento de la aplicación de los factores de crecimiento o del plasma pobre en plaquetas, así como durante la extracción del menisco el cirujano desconocía el grupo al que pertenecía cada rodilla. Igualmente, el patólogo desconocía la asignación

a los grupos de las muestras cuando realizó la evaluación microscópica de los meniscos extraídos.

Este trabajo de investigación fue realizado en el Laboratorio de Cirugía Experimental de la Universidad El Bosque, el cual está autorizado para investigar en animales de menor tamaño y cumple con todos los requerimientos de Bioética establecidos en la ley 84 de 1989 y la resolución No. 008430 de 1993.

Técnica quirúrgica

Se realiza anestesia general intramuscular utilizando hidrocloreto de ketamina a una dosis de 60 mg/kg más hidrocloreto de xylacina al 2 % a una dosis de 4 mg/kg. Se realiza un abordaje parapatelar lateral exponiendo el menisco lateral (figura 2a). Bajo visión directa se realiza una lesión completa meniscal controlada de forma radial con bisturí No. 11 en el cuerno posterior del menisco externo (figura 2b). Luego, se repara la lesión con sutura meniscal utilizando la técnica adentro-afuera con sutura tipo PDS 3/0. Posteriormente, se procede a aleatorizar las rodillas de cada

conejo de manera que una quede asignada al grupo experimental y la otra al grupo control. A las rodillas asignadas al grupo experimental se les aplicaron factores de crecimiento autólogos directamente sobre la sutura meniscal utilizando aguja hipodérmica No. 24 (figura 3a). Los factores de crecimiento fueron procesados por Ortho Wave Colombia, empresa que ha estandarizado su fabricación (figura 3b). A las rodillas asignadas al grupo control se les aplicó plasma pobre en plaquetas. El cirujano no tuvo conocimiento de las rodillas a las cuales aplicó factores de crecimiento, haciendo el estudio cegado para el cirujano y autocontrolado con la rodilla contralateral del mismo conejo. Se cierra por planos. No se hace inmovilización posoperatoria de acuerdo a los estándares en cirugía de animales menores.



Figura 2. a) Exposición del menisco. b) Lesión del menisco.

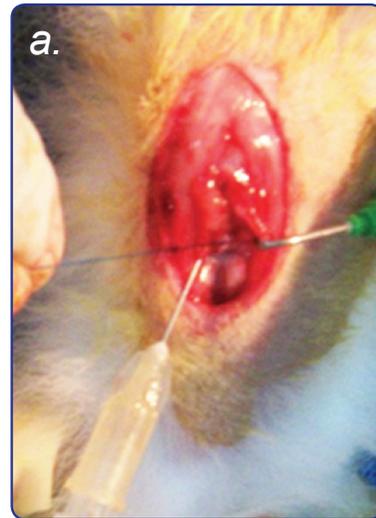


Figura 3. a) Sutura del menisco y aplicación de factores de crecimiento. b) Muestras sanguíneas para el procesamiento de los factores de crecimiento autólogos.

Posoperatorio

En el posoperatorio, los conejos se mantuvieron en jaulas separadas por un periodo de 3 semanas un grupo de nueve conejos y seis semanas los restantes nueve. Para el manejo posoperatorio se utilizaron las instalaciones y el personal calificado del bioterio de la Universidad el Bosque que maneja estándares de calidad certificados y bajo la supervisión de la Secretaría de Educación y de Salud para la realización de este tipo de experimentos con animales menores (figura 4).



Figura 4. Bioterio para animales de mediano tamaño.

Sacrificio

En el laboratorio de experimentación se sacrificaron un grupo de 9 conejos a las tres semanas y otro grupo de 9 conejos a las seis semanas utilizando fenobarbital sódico a una dosis de 200 mg/kg. Después se extrajo el menisco externo. El manejo del cadáver estuvo a cargo del personal del bioterio según las normas internas establecidas para realizar dicho proceso en el cual se desecha en doble bolsa roja y se entrega a la compañía de manejo de material biológico para ser cremado.

Análisis de meniscos

Para el análisis macroscópico se realiza abordaje lateral. Para no realizar lesión en el menisco, se realiza tenotomía del ligamento colateral lateral, el tendón del poplíteo, los ligamentos cruzados anterior y posterior. Luego, se luxa en su totalidad la rodilla y se retira la inserción anterior capsular del menisco lateral y su inserción en cuerno anterior y posterior. A continuación, se retira la sutura y se observa el estado de cicatrización de la lesión y su resistencia a la tensión de forma subjetiva (solo al retirar la sutura) (figura 5). La muestra es conservada en formol y marcada en tubos individuales. El estudio microscópico se realiza por patólogo mediante tinción con hematoxilina-eosina y se realizan microcortes histológicos de 4 micras. En el reporte se describe el paso de fibras de colágeno (figura 6). Después de tener las tablas tanto del estudio macroscópico como del informe patológico, se abre el ciego para conocer el grupo al que pertenecía cada menisco evaluado. El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico SPSS 15.0 mediante estadística descriptiva y la prueba t de Student para muestras relacionadas.

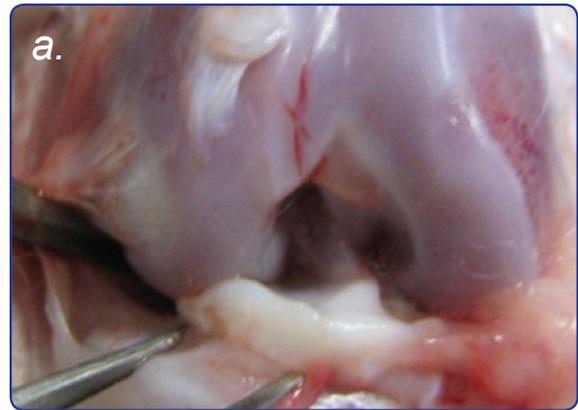


Figura 5. a) Aspecto macroscópico de un menisco cicatrizado. b) Menisco sin cicatriz.



Figura 6. Placa histológica de la cicatrización de un menisco.

Resultados

En el grupo experimental (tratado con factores de crecimiento) se evidenció macroscópicamente que el 94,4 % de los meniscos había cicatrizado (tabla 1), mientras que en el grupo control únicamente el 11,1 % lo habían hecho (tabla 2).

Tabla 1. Resultado de meniscos cicatrizados con la aplicación de factores de crecimiento autólogos bajo visión directa.

	Frecuencia	Porcentaje
Cicatrizado	17	94,4
No cicatrizado	1	5,6
Total	18	100

Tabla 2. Resultado de meniscos cicatrizados con la aplicación de plasma pobre en plaquetas bajo visión directa.

	Frecuencia	Porcentaje
Cicatrizado	2	11,1
No cicatrizado	16	88,9
Total	18	100

En la microscopía, se evidenció la cicatrización meniscal en el 88,9 % de los especímenes del grupo experimental (tabla 3), mientras que en el grupo control únicamente se evidenció cicatrización en el 11,1 % de los especímenes (tabla 4).

Tabla 3. Resultado de meniscos cicatrizados con la aplicación de factores de crecimiento autólogos bajo visión microscópica.

	Frecuencia	Porcentaje
Cicatrizado	16	88,9
No cicatrizado	2	11,1
Total	18	100

Tabla 4. Resultado de meniscos cicatrizados con la aplicación de plasma pobre en plaquetas bajo visión microscópica.

	Frecuencia	Porcentaje
Cicatrizado	2	11,1
No cicatrizado	16	88,9
Total	18	100

En cuanto al tiempo de cicatrización, se encontró que 8 de los 9 meniscos que se trataron con factores de crecimiento cicatrizaron a las 3 semanas y los mismos 8 de 9 meniscos cicatrizaron a las 6 semanas.

Discusión

Las rupturas de menisco son una de las principales causas de sintomatología de rodilla en la consulta ortopédica, ya sea con un antecedente traumático o dolores crónicos incapacitantes. De las lesiones meniscales, son las lesiones radiales del cuerno posterior del menisco externo (hiato poplíteo) las que presentan mayores problemas en cuanto a resolución y rerruptura, con el índice de falla más alto (60 %). Si estas se asocian a ruptura del ligamento cruzado anterior su resultado mejora sustancialmente pero siguen con un porcentaje de falla que no es tolerable (30 %) (5, 6, 7).

Una de las herramientas disponibles como coadyuvante para el manejo de las rupturas meniscales son los factores de crecimiento autólogos que ofrecen una ventaja biológica en la cicatrización natural de las lesiones meniscales. Algunos artroscopistas han utilizado esta herramienta con buenos resultados en segundas miradas artroscópicas, pero no dejan de ser evidencia tipo IV (8, 9).

En este estudio se presentan resultados objetivos en cuanto a la resolución macro y microscópica de la lesión y en cuanto al tiempo de resolución de las lesiones. Se encontró que de los 18 meniscos tratados con factores de crecimiento y sutura meniscal 17 cicatrizaron macroscópicamente, pero uno de ellos no presentó cicatrización microscópica con paso de fibras de colágeno ni adecuada concentración de las mismas en la lesión. Esto nos indica que ese porcentaje de no unión tan alto que se encuentra en las lesiones radiales del hiato poplíteo disminuye en el menisco del conejo tratado con factores de crecimiento y sutura meniscal. También se encontró que los

meniscos que se trataron únicamente con la sutura meniscal tuvieron un porcentaje de no cicatrización similar al esperado y encontrado en la literatura (6) ya que de los 18 meniscos no cicatrizaron 16.

En cuanto al tiempo de cicatrización, se evidenció que 8 de los 9 meniscos que se trataron con factores de crecimiento cicatrizaron a las 3 semanas y que solo 8 de los 9 cicatrizaron a las 6 semanas.

Se comprobó que el número de lesiones que cicatrizaron es mayor con la aplicación de factores de crecimiento y que la cicatrización es más rápida que en el grupo sin factores de crecimiento. Estos resultados son muy alentadores en cuanto a la utilización de los factores de crecimiento en las lesiones complejas de menisco en conejos, pero no nos da información acerca de su utilización en humanos.

Por esta razón, es necesario el diseño de nuevos trabajos en humanos utilizando los factores de crecimiento en lesiones meniscales complejas para obtener resultados más objetivos que permitan dar recomendaciones acerca de su uso y poder en un futuro cambiar el protocolo de rehabilitación, en especial en deportistas de alto rendimiento.

Se encontró que al aplicar factores de crecimiento autólogos en lesiones de menisco en el conejo cambia tanto el desarrollo de la evolución de la cicatriz como la cantidad de lesiones que cicatrizan. Hubo una cicatrización macroscópica de 17 meniscos al aplicar factores de crecimiento y solo una cicatriz macroscópica en 2 rodillas no tratadas. A su vez, en el estudio microscópico, 16 de los que tuvieron factores de crecimiento resolvieron la solución de continuidad mientras que solo 2 del grupo control lo hicieron. Esto muestra un cambio en el resultado final a favor de los factores de crecimiento. Con respecto al tiempo, los factores de crecimiento aceleraron el proceso ya que en la muestra de las 3 semanas no se evidenció cicatriz en ningún menisco sin factores de crecimiento.

Igualmente, se vio una relación entre la observación macroscópica realizada por el cirujano y la patología que, aunque no es una relación del 100 %, sí se aproxima a lo encontrado en el microscopio; por ello, observar el menisco sin causar una nueva lesión para estudio por patología podría dar una idea bastante acertada de la resolución o no de la lesión.

Se puede concluir que los factores de crecimiento son útiles en lesiones de menisco en conejo y que se puede realizar un experimento en humanos para utilizar esta tecnología de manera regular.

Referencias bibliográficas

1. Arnoczky SP, Warren RF. Microvasculature of the human meniscus. *Am J Sports Med* 1982; 10: 90.
2. Cipolla M, Cerullo G, Fuaddu G. Microvasculature of the human medial meniscus: operative findings. *Arthroscopy* 1991; 8(4): 522-52.
3. Kimori K, Suzu F, Yamashita F, Sakakida K, Hirasawa Y. Evaluation of arthrography and arthroscopy for lesions of the posteromedial corner of the knee. *Am J Sports Med* 1989; 17: 638.
4. Perdue PS, Hummer CD. Meniscal repair: outcomes and clinical follow-up. *Arthroscopy* 1996; 12(6): 694-8.
5. Petersen W, Zantop T. Arthroscopic meniscal suture. *Oper Orthop Traumatol* 2006; 18: 393-410.
6. Yoo JC, Ahn JH, Lee SH, Lee SH, Kim JH. Suturing complete radial tears of the lateral meniscus. *Arthroscopy* 2007; 23(11): 1249e1-7.
7. Sgaglione NA. Meniscus repair: current concepts and new techniques. *Orthopedics* 2005; 28(3): 280-6.
8. Tenuta JJ, Arciero RA. Arthroscopic evaluation of meniscal repairs: factors that affect healing. *Am J Sports Med* 1994; 22: 797-802.
9. Lieberman JR, Daluiski A, Einhorn T. The role of growth factors in the repair of bone. *J Bone Joint Surg Am* 2002; 84-A(6): 1032-44.
10. Varghese S, Ramsby ML, Jeffrey JJ, Canalis E. Basic fibroblast growth factor stimulates expressions of interstitial collagenase and inhibitors of metalloproteinases in rat bone cells. *Endocrinology* 1995; 136: 2156-62.
11. Sánchez A, Sheridan P, Kupp L. Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review. *Int Oral Maxillofac Implants* 2003; 18: 93-103.
12. Scott WN. Insall & Scott. Rodilla. Madrid: Marban; 2007.
13. Becker R, Pufe T, Kulow S. Expression of vascular endothelial growth factor during healing of the meniscus in a rabbit model. *J Bone Joint Surg Br* 2004; 86-B: 1082-7.