



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA  
SECRETARIA DE SALUD  
INSTITUTO NACIONAL DE  
REHABILITACIÓN  
Luis Guillermo Ibarra Ibarra  
ESPECIALIDAD EN:

***ORTOPEDIA***

**FABRICACION DE UN SUSTITUTO DE MENISCO EN  
IMPRESORA 3D SUPLEMENTADO CON CELULAS  
TRONCALES MESENQUIMALES PROVENIENTES DE MEDULA  
OSEA HUMANA**

**T E S I S**

PARA OBTENER EL  
DIPLOMA DE  
MÉDICO ESPECIALISTA EN:

***ORTOPEDIA***

**P R E S E N T A:**

**MC. ANGEL ADRIAN  
CESAR JUAREZ**

PROFESOR TITULAR

*Dr. JUAN ANTONIO MADINAVEITIA VILLANUEVA*

ASESORA PRINCIPAL:

*DRA. en C. ANELL OLIVOS MEZA*

ASESORES:

*DR. en C. CARLOS LANDA SOLIS*

*DRA. En C. PHAEDRA SURIEL SILVA BERMUDEZ*



Ciudad de México, Febrero 2020



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## *Agradecimientos*

A mis padres Pedro y Lourdes quienes con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir hoy un sueño más, gracias por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo, dedicación y valentía, de no temer las adversidades porque ellos están conmigo siempre.

De igual manera mis agradecimientos a mi *alma mater* la Universidad Nacional Autónoma de México, a mis profesores quienes con la enseñanza de sus valiosos conocimientos hicieron que pueda crecer día a día como profesional, gracias por su paciencia, dedicación, apoyo incondicional y amistad.

Finalmente quiero expresar mi más grande y sincero agradecimiento a la Dra. Anell Olivos Meza, quien con su ejemplo, dirección, conocimiento, enseñanza y colaboración permitió el desarrollo de este trabajo.

*«Lo que sabemos es una gota de agua; lo que ignoramos es el océano»*

*Sir Issac Newton*

## Índice

<b>Resumen</b> .....	<b>5</b>
<b>Introducción</b> .....	<b>6</b>
<b>Planteamiento del Problema</b> .....	<b>9</b>
<b>Justificación</b> .....	<b>10</b>
<b>Objetivos</b> .....	<b>11</b>
Objetivo General .....	11
Objetivos Específicos.....	11
<b>Marco teórico</b> .....	<b>13</b>
<b>Capítulo I. BASES Y FUNDAMENTOS DE LAS TECNOLOGÍAS DE FABRICACIÓN POR ADICIÓN EN MEDICINA: LA IMPRESIÓN Y BIOIMPRESIÓN 3D</b> .....	<b>14</b>
La impresión 3D en medicina .....	14
¿Qué aplicaciones tienen los modelos 3D en la medicina? .....	16
Limitaciones de la impresión 3D .....	17
La bioimpresión 3D: un paso más allá de la impresión 3D, un paso hacia el futuro de la mano de la medicina regenerativa .....	18
Referencias.....	22
<b>Capítulo II. EL MENISCO: ANATOMÍA, BIOMECÁNICA Y PROPIEDADES FUNCIONALES</b> .....	<b>24</b>
Anatomía y composición meniscal .....	24
Biomecánica meniscal .....	27
Propiedades funcionales del menisco .....	29
Referencias.....	33
<b>Capítulo III. LESIONES MENISCALES: FISIOPATOLOGÍA, CLASIFICACIÓN Y TRATAMIENTO</b> .....	<b>35</b>
Introducción .....	35
Lesiones traumáticas meniscales en población joven .....	35
Clasificación .....	37
Clasificación internacional .....	39
Patrón y tratamiento de las lesiones meniscales.....	40
Referencias.....	41
<b>Capítulo IV. MENISCECTOMÍA TOTAL COMO TRATAMIENTO QUIRÚRGICO DE LAS LESIONES MENISCALES Y SU CORRELACIÓN CON OSTEOARTROSIS SECUNDARIA TEMPRANA EN PACIENTES JÓVENES</b> .....	<b>44</b>
Introducción .....	45
Incidencia y epidemiología .....	46

Fisiopatología.....	47
Historia del paciente, exploración física y diagnósticos diferenciales .....	48
Diagnóstico y hallazgos de imágenes.....	49
Historia natural y factores pronósticos del ONPK.....	49
Referencias.....	51
<b>Capítulo V. INGENIERÍA DE TEJIDOS ENFOCADA HACIA LA GENERACIÓN DE UN IMPLANTE MENISCAL IMPRESO EN 3D .....</b>	<b>53</b>
Introducción a la ingeniería de tejidos para el desarrollo de implantes meniscales .....	53
Andamios .....	54
Fuentes Celulares .....	57
Señalización bioquímica y biomecánica .....	58
Trasplante de aloinjerto meniscal .....	58
Andamios meniscales actualmente para uso clínico .....	60
Andamios meniscales impresos en 3D .....	61
Andamios impresos en 3D de $\epsilon$ -policaprolactona con liberación de proteínas .....	62
Referencias.....	63
<b>Capítulo VI. METODOLOGÍA .....</b>	<b>66</b>
Introducción .....	66
Ruta metodológica .....	66
Obtención de la fuente celular.....	69
Diseño de andamio meniscal .....	69
Desarrollo y elección del biomaterial.....	70
Fabricación-alineación y estratificación del andamio.....	70
Arquitectura del andamio .....	71
Parámetros de fabricación del andamio .....	71
Pruebas de impresión basados en el modelo tridimensional de menisco.....	72
Esterilización y siembra de los andamios de policaprolactona.....	72
Comprobación mediante estudios histológicos la correcta adhesión y viabilidad celular en el andamio .....	73
Implantación de los andamios en el modelo animal.....	74
Extracción de los andamios/ implantes de los conejos.....	75
Referencias.....	77
<b>Capítulo VII. RESULTADOS, ANALISIS Y CONCLUSIONES.....</b>	<b>79</b>
Viabilidad Celular.....	79

Valoración Macroscópica .....	80
Valoración Microscópica .....	81
Tinción Hematoxilina- Eosina .....	81
Tinción de Von Kossa .....	83
Tricrómico de Masson.....	83
Azul Alcían .....	85
Inmunofluorescencia: Proteínas propias de cartílago .....	85
Discusión y conclusiones .....	89
Referencias.....	90

## RESUMEN

Cuando se utiliza << menisco >> como palabra clave en los motores de búsqueda de publicaciones científicas, se observó una diferencia tremenda en el número de trabajos publicados entre las últimas 2 décadas: 1996-2006 y 2006-2016. Los meniscos han sido objeto de muchos estudios en una amplia gama de áreas de investigación, que incluyen, entre otras, biología, biomecánica, ingeniería genética, biotecnología, ingeniería de tejidos y estudios clínicos. Todo esto sumado a la importancia clínica de una lesión de menisco en la funcionalidad de los pacientes que la padecen.

Actualmente las estrategias regenerativas han alcanzado un punto más allá de la ingeniería tisular tradicional con el objetivo de desarrollar neo-tejido donde se busca lograr la celularidad nativa, la vascularidad y la composición de la matriz extracelular. La promesa última de la ingeniería de tejidos es la regeneración de tejidos mediante el uso de las células, los andamios, y los factores de crecimiento.

La mejor comprensión del tejido meniscal ha tenido un impacto en la práctica clínica, ya sea en la experimentación preclínica o en los métodos de procesamiento de biomateriales. Sin embargo, muchos aspectos aún no se han comprendidos o revelados profundamente. El implante meniscal ideal aún no se ha desarrollado; Sin embargo, vendrá con características biológicas como la celularidad junto con sus características biomecánicas nativas. Es esencial que un << neotejido >> tenga las características biológicas similares a las del menisco nativo sano de nuestros pacientes. El implante ideal debe ser "personalizado, hecho a la medida" o "paciente específico" para la preservar al máximo la función de la rodilla.

Actualmente las estrategias regenerativas han alcanzado un punto más allá de la ingeniería tisular tradicional con el objetivo de desarrollar neo-tejido donde se busca lograr la celularidad nativa, la vascularidad y la composición de la matriz extracelular. La promesa última de la ingeniería de tejidos es la regeneración de tejidos mediante el uso de las células, los andamios, y los factores de crecimiento.

Las células se derivan preferiblemente del mismo paciente y se expanden in vitro y se bioimprimen o se <<siembran>> directamente en el andamio que es un biomaterial poroso donde las células se pueden unir, proliferar, y diferenciar. Los principales desafíos se encuentran en lograr la similitud composicional y biomecánica del andamio con respecto a un menisco real. Por lo tanto, el tamaño del andamio y la forma son de importancia crítica. En consecuencia, existe la necesidad de ser un implante personalizado para cada paciente. En lugar de los métodos de fabricación tradicionales de formación de andamios, se utilizarían los métodos de prototipado rápido (Bioimpresión 3D) los cuales son superiores para la producción de un andamio que satisface las necesidades anatómicas y biofuncionales.

En este protocolo lo que se propone es la realización de un implante o sustituto meniscal mediante el uso de esta tecnología (Bioimpresión 3D) de reciente

introducción en la medicina regenerativa, para conseguir implantes “a la medida” y compatibles con el modelo animal sentando las bases para posteriormente ser extrapolado a la clínica en un futuro.

## INTRODUCCIÓN

En anatomía, un menisco (del griego *μηνίσκος meniskos*, “*media luna* - en asociación con la luna -”) es una estructura fibrocartilaginosa en forma de luna creciente que, a diferencia de un disco articular, solo divide parcialmente una cavidad articular. En el cuerpo humano se pueden encontrar en las articulaciones acromioclavicular, temporomandibular, esternoclavicular, muñeca y rodilla. Esta última es la que el resto de esta tesis se hará referencia en todo momento.

La articulación de la rodilla contiene 2 meniscos, que comprenden componentes mediales y laterales, ubicados entre el cóndilo femoral y la meseta tibial correspondiente. Cada uno es un tejido blanco brillante, compuesto por células, moléculas de matriz extracelular especializadas e inervación y vascularización específica de la región. Ambos meniscos son componentes críticos de una articulación de rodilla saludable.

La vascularización en este tejido es de gran relevancia. El menisco adulto contiene vasos sanguíneos y nervios solo en 10-25% del tejido periférico. Posteriormente, se distinguen dos regiones distintas del menisco: la región externa, vascular / inervada (zona roja-roja) y la región interna, completamente avascular / no inervada (área blanca-blanca). Estas dos áreas están separadas por la región roja-blanca, que presenta atributos de las regiones roja-roja y blanca-blanca (es decir, es de transición). Críticamente, la capacidad de curación de cada área está directamente relacionada con la circulación sanguínea, dejando la región blanca-blanca susceptible a lesiones postraumáticas y degenerativas permanentes.

El menisco juega un papel importante en la biomecánica y la tribología de la articulación de la rodilla. Proporcionan congruencia estructural y absorbe fuerzas mecánicas. Ahora se reconoce que una lesión de menisco predispone al desarrollo de la osteoartritis. El tratamiento de la lesión del menisco a través de la cirugía artroscópica se ha convertido en uno de los procedimientos quirúrgicos ortopédicos más comunes, y en los Estados Unidos esto puede representar del 10 al 20% de los procedimientos relacionados con la rodilla.

El menisco tiene una capacidad de cicatrización limitada y predominantemente solo en la periferia vascularizada (zona roja-roja) y, por lo tanto, la reparación quirúrgica de las regiones avasculares no siempre es factible. En estos casos lo más conveniente es realizar una menisectomía. Más de 700,000 personas en los Estados Unidos son tratadas con menisectomía parcial o total por año.

La sustitución y reparación del menisco para tratar las lesiones se está investigando mediante estrategias de ingeniería de tejidos. Por muy prometedores que sean

estos enfoques, existen, sin embargo, grandes barreras que superar antes de ser transferidos a la clínica.

El trasplante de aloinjerto de menisco ofrece una alternativa a la meniscectomía, pero los resultados a largo plazo de dichos trasplantes son insatisfactorios debido a una remodelación deficiente del tejido y son controvertidos debido a problemas de compatibilidad, rechazo inmunológico, desajuste anatómico porque no está "hecho a medida" del paciente, altos costos y riesgo potencial de transmisión de enfermedades.

Otra opción es el uso de andamios artificiales. Hay tres andamios de menisco artificial disponibles para su uso clínico en la actualidad: CMI®, ACTIFIT® y Nusurface™.

El implante de menisco de colágeno (CMI® por sus siglas en inglés) es un andamio compuesto por colágeno tipo I y glicosaminoglicanos, que incluyen condroitina y ácido hialurónico. Está químicamente reticulado con formaldehído y esterilizado usando radiación gamma. Los estudios en animales muestran que el crecimiento del tejido comienza superficialmente y el proceso de maduración progresa hacia las capas más profundas, con una infiltración fibrovascular activa de la membrana sinovial. Las biopsias de pacientes de estudios clínicos han mostrado crecimiento interno capilar y sustitución progresiva de IMC con colágeno inmaduro, lo que demuestra que el CMI es un andamio de menisco con la capacidad de remodelarse a sí mismo.

Actifit® es un andamio acelular hecho de poliuretano y policaprolactona polimérica de degradación lenta. El crecimiento del tejido se investigó clínicamente por primera vez a los 3 meses utilizando una tomografía computarizada de doble contraste que confirmó el crecimiento del tejido. Las muestras de biopsia tomadas a 1 año mostraron un patrón de organización tisular de tres capas basado en la presencia o ausencia de vasos, las características de MEC y la estructura celular en el 81% de los pacientes. El tejido era viable sin evidencia de una reacción inmune y se parecía al menisco nativo. Otro estudio informó sobre 52 pacientes con defectos irreparables de menisco durante 2 años. Sus resultados confirmaron una mejora clínica y estadísticamente significativa en todos los sistemas de puntuación clínica. Sin embargo, el estudio realizado por Spencer et al. realizado en 2012 mostró que, a pesar del buen resultado clínico, las características de la señal de RMN del tejido regenerado en el andamio no se parecen al fibrocartilago meniscal normal. Aunque se requiere un seguimiento continuo para confirmar si la tecnología de reemplazo de menisco puede mejorar el resultado a largo plazo, los resultados iniciales son prometedores.

Actualmente en Europa e Israel, se está llevando a cabo un estudio prospectivo, multicéntrico, abierto y no aleatorizado que evalúa el tratamiento de la deficiencia de menisco medial con el implante de menisco NUsurface™. Este es un dispositivo flotante libre de polietileno de alto peso molecular (UFMWPE) reforzado con policarbonato-uretano, que es similar a un menisco morfológicamente discoide y

requiere un borde periférico intacto para la inserción. Este material es permanente, sin degradación apreciable del tejido o capacidad de infiltración celular. La configuración preclínica se investigó utilizando un modelo de oveja y se encontraron algunos efectos condroprotectores.

El implante meniscal ideal aún no se ha desarrollado; sin embargo, vendrá con características biológicas como la celularidad a lo largo de sus características biomecánicas. Es esencial que un << neo tejido >> tenga características biológicas similares a las del menisco nativo sano de nuestros pacientes. El implante ideal debe ser "personalizado, hecho a la medida o específico para el paciente" para recuperar al máximo la función de la articulación de la rodilla.

La ingeniería de tejidos, cuyo objetivo es regenerar el tejido dañado, ofrece una estrategia potencial para el reemplazo de menisco. Recientemente, se han investigado numerosos materiales, como los andamios para construir implantes de menisco. En general, los andamios para uso como tejidos y órganos tienen varias funciones obligatorias: deben proporcionar vías internas para la unión y migración celular (poros), deben transferir varios factores de crecimiento y productos de desecho, y deben mantener su forma mientras las células crecen y deben tener propiedades mecánicas adecuadas o compatibles.

Por lo tanto, la tecnología de *bioimpresión 3D* es uno de los métodos más apropiados para producir una estructura para su uso como andamiaje. La bioimpresión 3D es la técnica que permite ensamblar material o células biológicas en una organización prescrita para crear estructuras funcionales como microarreglos celulares o estructuras anatómicas tridimensionales. (MeSH 2013), permite controlar un patrón de células que se mantendrá dentro de la estructura 3D, al tiempo que mantiene su fisiología y viabilidad. Los avances introducidos por esta técnica han aumentado considerablemente como la capacidad de controlar la distribución del tamaño de los poros, el volumen de los poros y la interconectividad de los poros de los andamios. La impresión 3D capa por capa es para proporcionar un posicionamiento preciso de los materiales biológicos, bioquímicos y células vivas, con el control espacial de la colocación de estos componentes funcionales, se puede obtener una copia fiel del tejido original.

En 2014, Lee & Mao et al. informaron que los andamios de poli-caprolactona (PCL) impresos en 3D y cargados con microesferas poliméricas que contenían dos factores de crecimiento (CTGF y TGF $\beta$ 3) dirigidos a la regeneración meniscal, indujeron la diferenciación fibrocondrocítica de células endógenas para la regeneración de menisco de rodilla en un estudio con ovejas. Este fue el primer estudio en realizar andamios bioimpresos con fines regenerativos en un modelo animal en el mundo.

Por todo lo anterior, existe la necesidad de diseñar un andamio o implante de menisco, utilizando ingeniería tisular, utilizando la bioimpresión 3D, que permita andamios personalizados adaptados anatómicamente y biomecánicamente para la rodilla del paciente, con células derivadas del paciente (lo que evita el rechazo de el

implante), tejido fibro cartilaginoso diferenciado (que es similar al menisco) en un ambiente estéril altamente controlado (que previene la infección de patógenos externos).

En este protocolo lo que se propone es la realización de un implante o sustituto meniscal mediante el uso de esta tecnología (Bioimpresión 3D) de reciente introducción en la medicina regenerativa, para conseguir implantes “a la medida” y compatibles con el modelo animal para posteriormente ser extrapolado a la clínica en un futuro.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

El menisco de la articulación de la rodilla es un tejido conectivo en forma de media luna entre los cóndilos femorales distales y tibiales proximales que proporciona congruencia estructural y absorbe las fuerzas mecánicas. Las lesiones en el menisco son el diagnóstico ortopédico más frecuentemente reportado en la articulación de la rodilla en pacientes jóvenes que realizan algún tipo de actividad física. Más de 1.5 millones de personas en los Estados Unidos y Europa son tratados mediante meniscectomía parcial o total anualmente. Actualmente no existen cifras precisas en México. La meniscectomía (resección de menisco) representa una alternativa frecuente al tratamiento de las lesiones meniscales que expone los cóndilos femorales y tibiales al desgaste excesivo y es un factor altamente predisponente para desarrollar osteoartritis.

Sin embargo, el estrés fisiológico anormal que se ejerce sobre el cartílago articular a menudo conduce a la osteoartritis de rodilla y esta relacionados con una alta morbilidad. Actualmente la osteoartritis de rodilla juega un factor importante como discapacidad entre la población de mediana y avanzada edad en el mundo.

El trasplante de aloinjerto meniscal proporciona una alternativa a la meniscectomía, pero los resultados a largo plazo de dichos trasplantes son insatisfactorios debido a la mala remodelación tisular y son controvertidos debido a cuestiones de compatibilidad, rechazo inmunitario, desajuste anatómico al no ser “a la medida del paciente”, elevados costos y riesgo potencial de transmisión de enfermedades.

El menisco ha sido el tema de muchos estudios de una amplia gama de áreas de investigación, incluyendo, pero no limitado a biología, biomecánica, ingeniería genética, biotecnología, ingeniería de tejidos y ciertamente estudios clínicos. La mejor comprensión de tejido meniscal ha estado teniendo un impacto en la práctica clínica, ya sea la experimentación preclínica, o métodos de procesamiento de biomateriales. Sin embargo, muchos aspectos aún no han sido profundamente entendidos o revelados. El implante meniscal ideal todavía no se ha desarrollado; sin embargo, vendrá con características biológicas tales como la celularidad a lo largo de sus características biomecánicas.

Es indispensable que un <<neotejido>> cuente con las características biológicas similares a las del menisco nativo sano de nuestros pacientes. El implante ideal

debe ser “personalizado, hecho a la medida ó paciente-especifico” a la función de la articulación de la rodilla.

La ingeniería tisular, que tiene como objetivo regenerar el tejido dañado, ofrece una estrategia potencial para el reemplazo de menisco. Recientemente, se han investigado numerosos materiales como andamios para construir implantes meniscales.

Por todo lo anterior surge la necesidad de diseñar un andamio o implante meniscal, mediante ingeniería de tejidos, utilizando bioimpresión 3D lo cual permite realizar un andamio personalizado anatómico y biomecánicamente adaptado para la rodilla del paciente, con células derivadas del paciente (lo cual previene rechazo del implante), diferenciadas a tejido fibro cartilaginoso (el cual es similar al del menisco) en un ambiente estéril altamente controlado (lo cual previene la infección de patógenos externos).

Por lo cual surgen las siguientes preguntas de investigación:

¿Es posible crear un andamio meniscal anatómicamente compatible a partir de un estudio de resonancia magnética nuclear de rodilla de un sujeto sano extrayendo el volumen meniscal mediante un software de ingeniería reversa para su posterior impresión en 3D?

¿Es posible sembrar células madre mesenquimales derivadas de médula ósea en andamios meniscales artificiales impresos en 3D?

¿Cuál es el mejor material para formar estos andamios meniscales? Es decir: que posea propiedades de biocompatibilidad y biomecánicas parecidas al menisco nativo.

¿Estos andamios aportarán algunos beneficios en la regeneración meniscal, la resistencia mecánica y la condroprotección en la rodilla de un modelo animal?

¿Estos andamios podrán ser una alternativa como sustitutos meniscales?

## **JUSTIFICACION**

La osteoartritis de rodilla (OA), es el trastorno común de las articulaciones en el mundo, es una artropatía crónica en la que la pérdida de cartílago, la formación de osteofitos y la esclerosis subcondral del hueso provocan dolor, discapacidad y una reducción de la calidad de vida. La osteoartritis (OA) después de un procedimiento de menisectomía parcial o total es una patología común. Debido a la alta incidencia de menisectomía en la población general, así como a la carga significativa de OA de rodilla, existe un interés creciente en la determinación de métodos para retrasar la osteoartritis postmenisectomía.

Aproximadamente 700,000 menisectomías parciales artroscópicas se realizan en los Estados Unidos cada año. En México no contamos con una estadística como tal. La menisectomía artroscópica puede dar lugar a una progresión más rápida a la osteoartritis (OA) en la rodilla afectada en comparación con una rodilla similar que se ha sometido a técnicas de preservación del menisco o es normal. El grado de OA y el tiempo hasta la aparición de OA dependen más del volumen de menisco

tomado en el momento de la cirugía, ya que los estudios han demostrado que el aumento del tamaño de la meniscectomía reduce el área de contacto dentro de la articulación de la rodilla y por lo tanto mayores presiones de contacto en el cartilago en el compartimento ipsilateral. Las opciones de tratamiento actuales son escasas; El alivio de los síntomas mediante el uso de analgésicos y terapia física son las terapias más utilizadas. Eventualmente, la artroplastia o una osteotomía pueden ser inevitables, pero aún se necesita una cura para la OA o por lo menos un método menos agresivo para retrasarla o frenarla.

Este panorama ha conducido al desarrollo y evolución de los conceptos de preservación y sustitución meniscal. Se han utilizado incluso el trasplante heterólogo de menisco de origen cadavérico. El uso de andamios sintéticos para reemplazar un menisco ha tomado auge por las nuevas técnicas introducidas por la medicina regenerativa, actualmente en el mundo hay 3 andamios que se encuentran a disponibilidad para este fin (Actifit®. Orteq Bioengineering. UK; CMI® Ivy Sports Medicine UK; NUsurface® Active implants) sin embargo tienen costos muy elevados. *Por tales razones es necesario buscar una alternativa más económica, con menos tasa de rechazo que nos permita desde un punto de vista epidemiológico disminuir la incidencia de osteoartrosis postmeniscectomía, evitando en ese grupo poblacional el dolor, disminución de su calidad de vida que genere discapacidad para las actividades del día a día y evitando los costos elevados para los sistemas de salud por dicha discapacidad prevenible.*

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general:**

Obtener un prototipo de implante meniscal paciente-específico desde el punto de vista anatómico, biológico, mecánico y funcional mediante ingeniería de tejidos a través de impresión 3D el cual pueda tener un uso potencial en la clínica.

Para lograr este complejo objetivo principal es necesario resaltar la necesidad de primeramente dividir este protocolo en 2 fases: una fase de investigación básica, posteriormente una fase preclínica (basada en un modelo animal), bajo los principios bioéticos, de bioseguridad y legales vigentes en nuestro país para asegurar al máximo la integridad de los animales que potencialmente pueden formar parte de este protocolo.

Los objetivos secundarios de este protocolo dependerán de la fase en la que se encuentre, se abordan a continuación.

### **Objetivos específicos:**

#### **Fase de experimentación básica (laboratorio)**

1. Obtener una fuente celular a partir de células madre mesenquimales (a partir de médula ósea o células mesenquimales de origen sinovial humanas para diferenciarlas en condrocitos y fibrocondrocitos los cuales sean potencialmente viables para su colocación simultánea en un andamio sintético)
2. Elegir un material biocompatible con las estirpes celulares antes mencionados con biomecánica lo más similar al menisco y viable para generar un andamio impreso en 3D

3. Realizar pruebas de impresión basados en imágenes procesadas de RMN de pacientes aleatorios del instituto con el andamio y las células diferenciadas para verificar su viabilidad invitro de las mismas

#### **Fase preclínica con modelo animal**

1. Elegir un modelo animal acorde al objetivo del estudio basados en la literatura mundial y los recursos que cuente el equipo de trabajo para poder llevar a cabo este estudio (12 conejos)
2. Obtener la autorización del comité de ética del hospital para el manejo de animales de experimentación en esta fase.
3. Realizar artrotomía mediante abordaje específico para el modelo animal, con el fin de realizar menisectomía parcial y anclaje del andamio (implante meniscal)
4. Recibirán cuidados postoperatorios y movilización temprana, y al cabo de 12 semanas se realizará eutanasia de los sujetos tratados para realizar toma de biopsia de los injertos con el fin de observar su comportamiento
5. Observar viabilidad y regeneración del injerto mediante análisis histológico convencional e inmunofluorescencia a fin de obtener un sustento científico sólido para llegar a sentar las bases para un estudio clínico piloto.

# MARCO TEORICO

## CAPITULO I

### USO Y APLICACIÓN DE TECNOLOGÍA DE IMPRESIÓN Y BIOIMPRESIÓN 3D EN MEDICINA E INGENIERÍA TISULAR

En los últimos años, la impresión tridimensional (3D) ha ido ganando terreno por su versatilidad y aplicaciones en diversos ámbitos, en especial en el área de la salud por lo que resulta de nuestro interés su aplicación en la creación de modelos anatómicos, prototipos, prótesis personalizadas, entre muchas otras aplicaciones médico-ortopédicas.

Al rededor del mundo las llamadas << **tecnologías de fabricación por adición (TFA)** >> han cobrado importancia diversos aspectos de la vida diaria. Esta técnica incluso ha sobrepasado las fronteras de casi de todos los campos de la industria y la ciencia como la ingeniería, el diseño, la química, la farmacéutica, la biología y la medicina. Siendo en la actualidad la confección de diseños a la medida de órganos y piezas prostéticas una realidad.

La TFA es un conjunto de conocimientos técnicos cuyo objetivo es crear un objeto tridimensional mediante la superposición de capas sucesivas de diversos materiales. Esta tecnología es opuesta a la fabricación por sustracción en la cual se generan formas a partir de la eliminación de exceso de material. La impresión 3D requiere de un equipo y software especial en el cual a partir de un diseño o imagen se crea un modelo tridimensional, el cual es reconocido y leído por la impresora y a partir del cual el objeto se va construyendo por la adición "capa a capa" del material deseado (filamentos de polímeros o metales).

#### **La impresión 3D en medicina**

La impresión 3D (termino introducido a la terminología MeSH en 2015) se define como <<un conjunto de procesos usados para realizar un objeto físico tridimensional, también conocido como "prototipado rápido">>. Esto se realiza mediante la aplicación capa por capa de un material solido a temperatura ambiente, con un punto de fusión conocido controlado por un sistema computarizado para crear dicho objeto.<sup>1</sup>

Esta técnica fue desarrollada originalmente para imprimir capas secuenciales finas de material seguido de un proceso de curado con luz ultravioleta para formar sólidas estructuras tridimensionales y se denominó "estereolitografía", descrita por primera vez en 1986 por Charles W. Hull.<sup>2</sup> Con el paso de los años, esta técnica ha avanzado a pasos agigantados y se ha logrado volverla más rápida y compleja.

La elaboración de objetos mediante impresión 3D se realiza a partir de un archivo cuya base estructural es un modelo tridimensional virtual con la posibilidad de construirse físicamente, en el caso de la medicina correspondiendo a los estudios de imagen de un paciente para crear un molde a la medida. Un modelo no es sino la representación digital de lo que se planea imprimir mediante algún programa computarizado para modelarlo.

En la actualidad existen una amplia variedad de softwares que pueden ser objeto de este proceso principalmente los de tipo CAD (Computer-Aided Design o diseño asistido por computadora) y los de tipo CAM (Computer-Aided Manufacturing o Fabricación asistida por computadora) de uso extendido en el área de las ingenierías, ejecutables y modificables en diversas plataformas como BLENDER® y AutoCAD® son los tipos de archivos generalmente utilizados como base en el diseño de diversos objetos compatibles con la impresión en tercera dimensión.

Desde que la impresión 3D pudo combinarse con la tecnología tipo CAD/CAM, se han intentado fabricar estructuras tridimensionales biomiméticas (con imitación anatomofuncional de un tejido) únicas del tejido u órgano que se desea replicar, utilizando las imágenes médicas de los pacientes intentando preservar al máximo la anatomía de las mismas.<sup>3</sup>

La resonancia magnética nuclear (RMN), la tomografía axial computarizada (TAC) y otras imágenes radiográficas son la principal fuente para obtener información volumétrica en tercera dimensión de un tejido u órgano. Esta información de imágenes médicas se almacena en un archivo de imágenes digitales (archivo \*.DICOM por sus siglas en inglés) que posteriormente se utilizan para desarrollar el modelo CAD mediante un proceso de ingeniería inversa. Así, este proceso transforma la "anatomía analítica" en "anatomía sintética"<sup>4,5</sup>

Este tipo de archivos son por definición un constructo tridimensional, virtual e intangible. Actualmente la impresión 3D es una herramienta que nos permite, mediante un programa de impresión especial, construir un modelo a partir de lo virtual a lo tangible. Para esto es necesario convertir el diseño o modelo a un formato o "idioma" conocido por la impresora con un archivo de extensión \*.STL (Stereolithography). A partir de este formato, la impresora ejecuta los comandos para la construcción de cualquier modelo, en coordenadas milimétricas englobadas en el espacio de impresión conforme a los ejes X, Y y Z (*Figura 1*).<sup>5</sup>

La impresora 3D consiste esencialmente de un brazo robótico multi-eje o mejor conocido como robot cartesiano (con 3 ejes X, Y, Z) con una boquilla extrusora, una fuente de energía, y un sustrato para depositar el material fundido.<sup>5</sup>

En la mayoría de las fabricaciones mediante impresión 3D utiliza materiales termoplásticos, que como su nombre lo indica, adquieren la forma semilíquida a temperaturas mayores a los 120 °C, convirtiéndolo en un material fácilmente aplicable mediante la boquilla extrusora que va depositando finas capas sobre una plataforma hasta la construcción del modelo, el cual se endurece a medida que la temperatura del material disminuye. Esta técnica permite utilizar materiales termoplásticos como el PLA (ácido poliláctico), ABS (acrilonitrilo butadieno estireno), HDPE (polietileno de alta densidad), metales sintéticos, e inclusive materiales comestibles o fármacos.

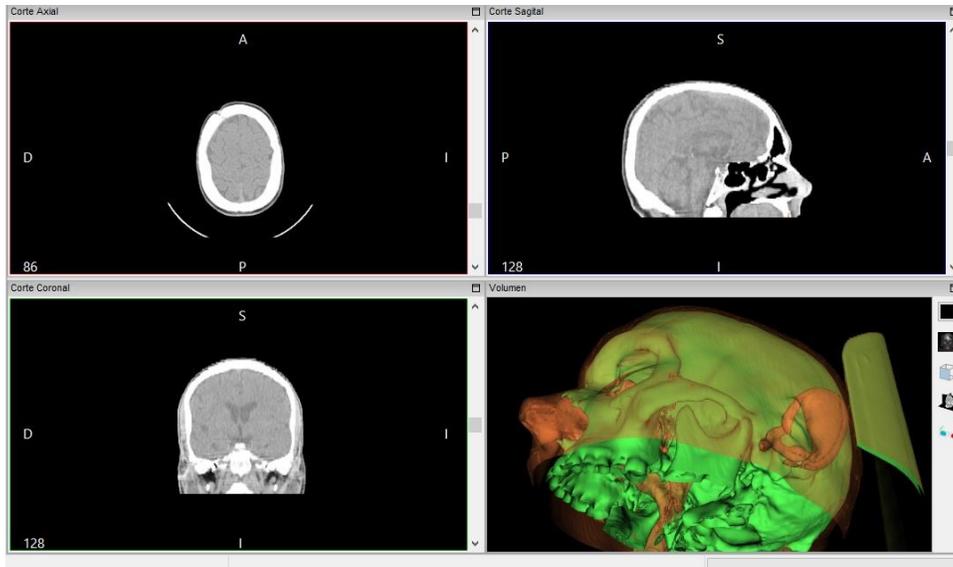


Figura 1. Ejemplo de reconstrucción a partir de una TC de cráneo con cortes sagitales, coronales y axiales en Invesalius© versión 3.1 que es un software libre de ingeniería reversa que utiliza una secuencia de archivos 2D tipo DICOM para generar volúmenes o superficies como archivos de mallas para crear modelos físicos de la anatomía del paciente utilizando TFA. InVesalius fue desarrollado en CTI (Centro de Tecnología de la Información Renato Archer) en 2007, un instituto de investigación del Centro de Ciencia y Tecnología de Brasil y está disponible sin costo en la página de inicio del Portal de Software Público. La licencia del software es CC-GPL 2.

## ¿Qué aplicaciones tienen los modelos 3D en la medicina?

Hasta la fecha existen más de 80 artículos indizados en PUBMED que indican las distintas aplicaciones médicas de las impresiones 3D en la medicina, las cuales pueden agruparse de forma general en tres categorías:

### 1.- Modelos anatómicos

Los modelos 3D pueden emplearse para fines educativos, tanto para pacientes como para estudiantes, médicos en adiestramiento y cirujanos. Estos modelos pueden jugar un papel importante en el proceso de reconstrucción de casos quirúrgicos complejos. Estos modelos asisten al cirujano a demostrar la complejidad de los casos al paciente y a sus familiares, pudiendo también ser excelentes auxiliares para el entendimiento de la naturaleza del procedimiento por médicos en entrenamiento y especialistas.<sup>5</sup>

### 2.- Planeación preoperatoria

La impresión 3D se ha introducido recientemente en el campo quirúrgico como una herramienta para una mejor comprensión de cualquier anomalía subyacente compleja. Esto puede mejorar y facilitar la calidad diagnóstica y ayudar en la planificación pre-quirúrgica. Se ha demostrado su aplicación y beneficio en la cirugía craneofacial y maxilofacial.<sup>6-12</sup> Los primeros estudios en cirugía ortopédica, neurocirugía, cirugía de columna, cirugía cardiovascular y cirugía abdominal demostraron una mejora significativa en el diagnóstico y tratamiento debido a una

mejor apreciación de la estructura afectada, mayor precisión y posibilidad de una adecuada planificación previa.<sup>13-18</sup> Simular todos los pasos quirúrgicos complicados por adelantado usando modelos prototipo puede ayudar a prever complicaciones intra y post-operatorias. Esto puede resultar en una reducción del tiempo cirugía permitiendo un uso rentable de las salas de cirugía.<sup>19-20</sup> El empleo de placas en las fracturas articulares complejas, como las de acetábulo, osteotomías en displasia del desarrollo de la cadera u osteotomías de alineación son un claro ejemplo de su utilización dado que permite la planeación del pre-moldeado de las placas de osteosíntesis -- incluso antes de esterilizadas --, la selección del implante ideal dependiendo sus dimensiones, la longitud de los tornillos, la direccionalización y sitios de cuidado en su manejo.<sup>5</sup>

### 3.- Investigación médica

La impresión 3D abre nuevas oportunidades para las actividades de investigación científica, pudiendo ayudar a elucidar los procesos fisiológicos que aún no se entienden completamente. La hemodinámica puede ser investigada, por ejemplo, mediante RM de velocidad codificada o por mediciones de flujo óptico en modelos transparentes.<sup>21</sup>

### 4.- Implantes

La impresión de modelos 3D está siendo aplicada en la generación de implantes personalizados como prótesis de rodilla y cadera “hechos a la medida”. El modelado rápido de fijadores externos 3D personalizados es ahora una realidad que permite al cirujano tener una experiencia visual y táctil preoperatoria que le permitan anticiparse a las dificultades quirúrgicas.

La reconstrucción de la cadera, del fémur y la rodilla son otras áreas quirúrgicas que potencialmente se benefician de esta técnica. Los materiales biocompatibles incluyen metales, cerámicas y polímeros. Las biocerámicas como la hidroxiapatita son actualmente el material preferido para la reconstrucción ósea.<sup>22- 25</sup>

### **Limitaciones de la impresión 3D**

Esencialmente se comentan tres limitantes en la impresión 3D: las dimensiones del objeto a imprimir, el tiempo y los costos.<sup>5</sup> La impresión 3D sólo puede aplicarse a estructuras que no excedan ciertas dimensiones ya que las impresoras no son capaces de producir modelos extremadamente grandes como el cuerpo entero. La limitación se supera actualmente al producir una versión en miniatura de una estructura grande mediante post-procesado o dividiendo el modelo completo en partes más pequeñas que se pueden combinar después de la impresión.

Sin embargo, una limitación importante se encuentra en el tiempo y el costo que se invierte en la generación de objetos 3D. En la actualidad, el uso generalizado de prototipos rápidos para la planificación quirúrgica o el diseño de implantes individuales no parece justificarse porque los procedimientos de planificación estándar o los implantes estándar son suficientes. Sin embargo, en casos complicados los costos adicionales pueden compensarse por los tiempos operativos reducidos y una mayor tasa de éxito del procedimiento quirúrgico.

El tiempo necesario para producir un objeto 3D también limita su uso en cirugía a casos electivos y lo hace inadecuado para situaciones de emergencia.<sup>5</sup>

### **La bioimpresión 3D: un paso más allá de la impresión 3D, un paso hacia el futuro de la mano de la medicina regenerativa.**

La medicina regenerativa (termino introducido a la MeSH en 2004) se define como “el campo de la medicina relacionado con el desarrollo y uso de estrategias dirigidas que tienen como objetivo la reparación o reemplazo de órganos, tejidos y células dañados, enfermos o metabólicamente deficientes a través de la ingeniería de tejidos, trasplante de células, u órganos artificiales o bioartificiales y tejidos”.<sup>26</sup>

Para lograr este objetivo, los andamios biomédicos hechos de polímeros naturales o sintéticos se han utilizado habitualmente en aplicaciones biomédicas y de ingeniería de tejidos. El objetivo principal de estos andamios es reemplazar o regenerar los tejidos nativos funcional y estructuralmente. En general, los andamios para su uso como tejidos y órganos tienen varias funciones obligatorias como proporcionar vías internas para la unión celular y la migración (poros), transferir varios factores de crecimiento y productos de desecho, y mantener su forma, mientras las células están creciendo y deben tener propiedades mecánicas adecuadas o compatibles.

El desarrollo de sistemas libres de disolventes, a base de agua, ha permitido la impresión directa de materiales biológicos en andamios 3D que podrían utilizarse para el trasplante con o sin células sembradas.<sup>27</sup> Por lo tanto, la tecnología de bioimpresión 3D es uno de los métodos más apropiados para producir andamios para cultivos celulares, permitiéndolo así ensamblar material biológico o células en una organización prescrita para crear estructuras funcionales tales como microarreglos celulares, o estructuras anatómicas tridimensionales. (MeSH 2013) reteniendo dentro de la estructura 3D su fisiología y viabilidad. Los avances introducidos por esta técnica han aumentado considerablemente la capacidad de controlar la distribución del tamaño del poro, su volumen y la interconectividad de los poros en los andamios. Algunos procesos de impresión en 3D se han realizado en hidrogeles como andamios con éxito favorable a temperatura ambiente sin ningún efecto significativo en la viabilidad celular.<sup>28</sup>

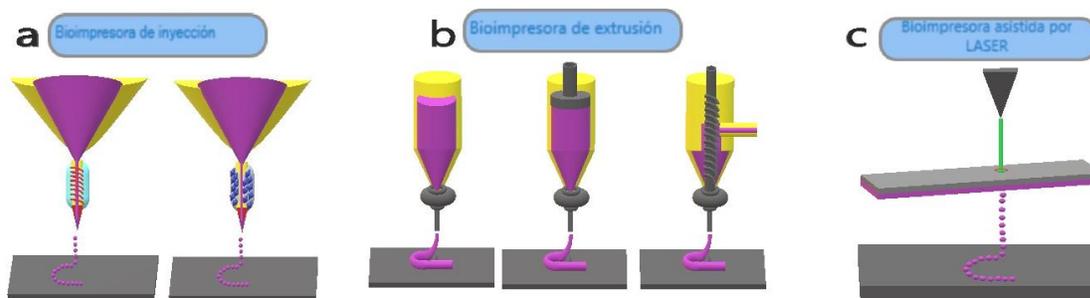
La impresión 3D capa por capa consiste en dar un posicionamiento preciso de materiales biológicos, bioquímicos y células vivas, con el control espacial de la colocación de estos componentes funcionales, puede obtenerse una copia fiel del tejido original.

Existen algunos enfoques para la bioimpresión 3D como el biomimetismo (imitación anatomofuncional de un tejido), el auto-ensamblaje autónomo y los mini-tejidos (en bloques de construcción). El fin común de todos ellos es generar un tejido con propiedades biológicas y mecánicas adecuadas para la restauración clínica del tejido y la función de los órganos.<sup>29-32</sup>

El reto principal en la impresión 3D es convertirla a una bioimpresión, en la que sea posible reproducir la compleja microarquitectura de los componentes de la matriz extracelular (MEC) y los diferentes tipos de células con la resolución suficiente para recapturar la función biológica. Los materiales actualmente utilizados en el campo de la medicina regenerativa para la reparación y regeneración se basan principalmente en el empleo de polímeros de origen natural (incluyendo alginato, gelatina, colágeno, quitosano, fibrina y ácido hialurónico, a menudo aislados de tejidos animales o humanos) o moléculas sintéticas como el polietilenglicol (PEG). Las ventajas de los polímeros naturales para bioimpresión y otras aplicaciones de ingeniería de tejidos son su similitud con la MEC (matriz extracelular) humana y su bioactividad inherente. La ventaja de los polímeros sintéticos con propiedades físicas específicas es que pueden adaptarse a aplicaciones particulares. Los desafíos en el uso de polímeros sintéticos incluyen una baja biocompatibilidad, productos de degradación tóxica y pérdida de propiedades mecánicas durante la degradación. Aun así, los hidrogeles sintéticos, que son a la vez hidrófilos y absorbentes, son atractivos para múltiples aplicaciones en la medicina regenerativa debido a la facilidad de controlar sus propiedades físicas durante la fabricación.<sup>32</sup>

A medida que los tejidos bioimpresos se desarrollan in vivo, deben ser susceptibles de remodelación, facilitando la formación de estructuras moduladas por los requerimientos celulares y fisiológicos. Lo más importante es que los materiales deben apoyar el apego, la proliferación y la función celular.<sup>33</sup>

Las principales tecnologías utilizadas para depositar y modelar materiales biológicos son: la inyección, la microextrusión y la impresión asistida por láser (Cuadro I y II). Deben considerarse las diferentes características de éstas, que son de manera general la resolución superficial, la viabilidad celular y los materiales biológicos utilizados para la impresión.<sup>34-36</sup>



CUADRO I (A) Las impresoras térmicas de inyección calientan eléctricamente el cabezal de impresión para producir pulsos de presión de aire que fuerzan gotitas desde la boquilla, mientras que las impresoras acústicas utilizan pulsos formados por presión piezoeléctrica o ultrasónica. (B) Las impresoras de microextrusión utilizan sistemas dispensadores neumáticos o mecánicos (pistón o tornillo) para extrudir perlas continuas de material y / o células. (C) Las impresoras asistidas por láser utilizan láseres enfocados en un sustrato absorbente para generar presiones que propulsan materiales que contienen células sobre un sustrato colector.

La elección de células para la impresión de tejidos u órganos es crucial para el correcto funcionamiento de la impresión. Los tejidos y los órganos comprenden múltiples tipos de células con funciones biológicas específicas y esenciales que deben retomarse en el tejido trasplantado. Además de los tipos de células funcionales primarias, la mayoría de los tejidos también tienen tipos de células que proporcionan funciones de soporte, estructurales o de barrera, participan en la vascularización o proporcionan un nicho para el mantenimiento y la diferenciación de las células madre. Las opciones actuales para imprimir células implican el depósito de múltiples tipos de células primarias en patrones que representan fielmente el tejido nativo o que imprimen células madre que pueden proliferar y diferenciarse en los tipos de células requeridos.

Tecnología	Otros nombres	Materiales utilizados	Precisión	Costo	Ventajas	Desventajas
<b>Térmicas de inyección</b>	Deposición Fundida ( <i>fused deposition modeling</i> - FDM)	Polimeros epoxicos basados en acrílicos  ABS PLA Biomateriales (policaprolactona)	++	\$\$	Disponibilidad de materiales biocompatibles  Buena precisión a costo razonable	Constructos frágiles, fuerza moderada  Los modelos son de un solo material  Opciones de color limitadas
<b>Micro-extrusión</b>	Inyección modelada por deposición de material	ABS PLA Metales	+	\$	Materiales de bajo costo Resistentes Larga duración	Menor precisión Superficies del modelo con prominentes escalones
<b>Asistidas por LASER</b>	<i>Selective laser sintering</i> (SLS)  <i>Selective laser melting</i> (SLM)	Plásticos Polímeros sintéticos Metales	+++	\$\$\$\$\$	Propiedades mecánicas diversas  Variedad de materiales  Alta resistencia para piezas funcionales  Materiales biocompatibles  No requiere soportes adjuntos (no metálicos)	Acabados de alta precisión  Modelos son de un solo material  Costo de producción muy elevado.

Cuadro II. Concentrado de las características de los distintos tipos de impresoras 3D comúnmente utilizadas en el área de la salud.

Cualquier tipo de célula elegida para la impresión debe ser capaz de expandirse en números suficientes para la impresión. El control preciso de la proliferación celular *in vitro* e *in vivo* es importante para la bioimpresión. La escasa proliferación puede dar lugar a la pérdida de viabilidad del impreso trasplantado, mientras que demasiada proliferación puede dar lugar a hiperplasia o apoptosis. Además, el momento de la proliferación celular es importante. Inicialmente, puede ser deseable una alta tasa de proliferación celular para poblar la construcción, pero a largo plazo, la proliferación debe mantenerse a una velocidad adecuada para lograr la homeostasis tisular, aunque sin hiperplasia. Se ha intentado resolver este problema mediante la transfección viral o el uso de moléculas pequeñas para inducir la proliferación celular y prevenir la senescencia.<sup>37,38</sup>

Al igual que con cualquier tejido u órgano trasplantado, el rechazo del implante impreso por el sistema inmune del receptor es un problema potencial que puede ser superado usando una fuente autóloga de células o usando estrategias de la tolerancia-inducción. Las fuentes autólogas de células pueden obtenerse a partir de biopsias, desde la generación y diferenciación de células madre autólogas o mediante reprogramación.

Actualmente hay protocolos establecidos para el aislamiento, expansión y diferenciación celular, donde las células del estroma mesenquimal (CsMS) pueden ser una fuente prometedora para las técnicas de bioimpresión. Los números clínicamente relevantes de CsMS que se han generado con éxito in vitro para ensayos clínicos y los futuros avances en las técnicas de cultivo celular permiten que el uso de otras poblaciones de células madre para aplicaciones clínicas de la bioimpresión sea una real posibilidad. Las células utilizadas deben ser lo suficientemente resistentes para sobrevivir al proceso y soportar las condiciones fisiológicas una vez trasplantadas, incluyendo fuerzas físicas tales como estrés de cizallamiento y presión, así como factores de estrés biológicos incluyendo presencia de toxinas, enzimas y un pH no fisiológico.

Un enfoque alternativo al paradigma bioimpresión - trasplante es la bioimpresión in vivo, en el cual las células y los materiales se depositan directamente sobre o en un paciente. Con el aumento de la velocidad y la resolución de los bioimpresoras 3D, este enfoque puede ser viable para la regeneración in vivo de los tejidos inmediatamente después de la lesión o durante la cirugía. Una herramienta quirúrgica robótica combinada con una bioimpresora podría ser capaz de eliminar y reemplazar los tejidos durante la misma cirugía o tal vez ser aplicada para acelerar la restitución de los tejidos eliminados por la intervención quirúrgica.<sup>39</sup>

## **Conclusiones**

La importancia de la aplicación de las TFA en medicina radica en permitir reproducir un tejido u órgano mediante el uso de la Bioimpresión con lo que se espera un impacto trascendente en múltiples especialidades médicas (cirugía plástica reconstructiva, cirugía maxilofacial, ortopedia, cirugía de columna, artroscopia, cirugía de trasplantes entre muchas otras). La expectativa en Latinoamérica de estas tecnologías es que sean un campo emergente en beneficio de los pacientes con la generación de implantes u órganos personalizados que favorezca el pronóstico y evolución de los tratamientos otorgados.

## REFERENCIAS

- 1.- Pub Med- MeSH Major Topic "Printing, Three-Dimensional" revisado el 25.08.17
- 2.- Takagishi K., Umezu S. Development of the improving process for the 3D printed structure. *Sci. Rep.-UK.* 2017;7:39852.
- 3.- Seol, Y. J., Kang, T. Y., & Cho, D. W. Solid freeform fabrication technology applied to tissue engineering with various biomaterials. *Soft Matter*, 2012; 8, 1730–1735.
- 4.- Mironov, V., Trusk, T., Kasyanov, V., Little, S., Swaja, R., & Markwald, R. . *Biofabrication: A 21st century manufacturing paradigm.* *Biofabrication*, 2009; 1, 022001.
- 5.- GarcíaLR, Espinoza-Gutiérrez A, Rivas-Montero JA, Hernández-Méndez VE, Santiago-García A, Banegas-Ruiz R, César-Juárez AA, Palmieri-Bouchan RB Impresión de modelos 3D para fracturas de radio distal: un estudio piloto en el Instituto Nacional de Rehabilitación *Rev Sanid Milit Mex* 2017; 71 (4)
- 6.- Elgalal M, Kozakiewicz M, Olszycki M, Walkowiak B, Stefanczyk L Custom implant design and surgical pre-planning using rapid prototyping and anatomical models for the repair of orbital floor fractures. *Eur Radiol*, 2009; 19(Suppl 1):S397
- 7.- D'Urso P, Earwaker W, Barker T, Redmond M, Thompson R, Effeney D, Tomlinson F Custom cranioplasty using stereolithography and acrylic. *Br J Plast Surg* 2000;53:200–204
- 8.- Faber J, Berto P, Quaresma M. Rapid prototyping as a tool for diagnosis and treatment planning for maxillary canine impaction. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 2006;129:583–589
- 9.- Mavili M, Canter H, Saglam-Aydinatay B, Kamaci S, Kocadereli I. Use of three-dimensional medical modeling methods for precise planning of orthognathic surgery. *J Craniofac Surg*, 2007; 18:740
- 10.- Muller A, Krishnan K, Uhl E, Mast G. The application of rapid prototyping techniques in cranial reconstruction and preoperative planning in neurosurgery. *J Craniofac Surg* 2003; 14:899–914
- 11.- Poukens J, Haex J, Riediger D. The use of rapid prototyping in the preoperative planning of distraction osteogenesis of the cranio-maxillofacial skeleton. *Comput Aided Surg* 2003;8:146–154
- 12.-. Wagner J, Baack B, Brown G, Kelly J Rapid 3-dimensional prototyping for surgical repair of maxillofacial fractures: a technical note. *J Oral Maxillofac Surg*, 2004; 62:898–901
- 13.- Wurm G, Tomancok B, Pogady P, Holl K, Trenkler J Cerebrovascular stereolithographic biomodeling for aneurysm surgery. Technical note. *J Neurosurg* 2004;100:139–145
- 14.- Giesel FL, Hart AR, Hahn HK, Wignall E, Rengier F, Talanow R, Wilkinson ID, Zechmann CM, Weber M, Kauczor HU, Essig M, Griffiths PD. 3D reconstructions of the cerebral ventricles and volume quantification in children with brain malformations. *Acad Radiol* 2009; 16:610–617
- 15.- Paiva W, Amorim R, Bezerra D, Masini M. Application of the stereolithography technique in complex spine surgery. *Arq Neuropsiquiatr* 2007; 65:443–445
- 16.- Armillotta A, Bonhoeffer P, Dubini G, Ferragina S, Migliavacca F, Sala G, Schievano S. Use of rapid prototyping models in the planning of percutaneous pulmonary valved stent implantation. *Proc Inst Mech Eng H* 2007; 221:407–416
- 17.- Kim MS, Hansgen AR, Wink O, Quaife RA, Carroll JDRapid prototyping: a new tool in understanding and treating structural heart disease. *Circulation* 2008;117:2388–2394
- 18.- Hiramatsu H, Yamaguchi H, Nimi S, Ono H [Rapid proto- typing of the larynx for laryngeal frame work surgery]. *Nippon Jibiinkoka Gakkai Kaiho* 2004;107:949–955
- 19.- D'Urso P, Barker T, Earwaker W, Bruce L, A M, Arvier J, Effeney D Stereolithographic biomodelling in cranio-maxillofacial surgery: a prospective trial. *J Craniomaxillo-fac Surg* 1999; 27:30–37
- 20.- Rengier, F., Mehndiratta, A., von Tengg-Kobligk, H. et al. 3D printing based on imaging data: review of medical applications *Int J CARS* 2010; 5: 335.
21. de Zélicourt D, Pekkan K, Kitajima H, Frakes D, Yoganathan AP Single-step stereolithography of complex anatomical models for optical flow measurements. *J Biomech Eng* 2005;127:204–207
22. Dai K, Yan M, Zhu Z, Sun Y Computer-aided custom-made hemipelvic prosthesis used in extensive pelvic lesions. *J Arthro- plasty* 2007;22:981–986
23. Harrysson O, Hosni Y, Nayfeh J Custom-designed orthopedic implants evaluated using finite element analysis of patient specific computed tomography data: femoral-component case study. *BMC Musculoskelet Disord* 2007;8:91
24. He J, Li D, Lu B, Wang Z, Tao Z Custom fabrication of composite tibial hemi-knee joint combining CAD/CAE/CAM techniques. *Proc Inst Mech Eng* 2006; 220:823–830

25. Wang Z, Teng Y, Li D (2004) Fabrication of custom-made artificial semi-knee joint based on rapid prototyping technique: computer-assisted design and manufacturing. 2004 Sep;18:347–351
- 26.- Pub Med- MeSH Major Topic “Regenerative Medicine” revisado el 25.08.2017
- 27.- Nakamura, M., Iwanaga, S., Henmi, C., Arai, K. & Nishiyama, Y. Biomatrices and biomaterials for future developments of bioprinting and biofabrication. *Biofabrication* 2010; 2, 014110.
- 28.- Pub Med- MeSH Major Topic “Bioprinting” revisado el 25.08.2017
- 29.- Ingber, D.E. et al. Tissue engineering and developmental biology: going biomimetic. *Tissue Eng.* 2006;12, 3265–3283 .
- 30.- Derby, B. Printing and prototyping of tissues and scaffolds. *Science* 2012; 338, 921–926.
- 31.- Kelm, J.M. et al. A novel concept for scaffold-free vessel tissue engineering: self-assembly of microtissue building blocks. *J. Biotechnol.* 2010;148, 46–55.
- 32.- Murphy, S. Atala, A. 3D bioprinting of tissues and organs. *Nature Biotechnology* 2014;32, 773–785 doi:10.1038/nbt.2958
- 33.- Murphy, S.V., Skardal, A. & Atala, A. Evaluation of hydrogels for bio-printing applications. *J. Biomed. Mater. Res. A* 2013;101, 272–284.
- 34.- Xu, T., Jin, J., Gregory, C., Hickman, J.J. & Boland, T. Inkjet printing of viable mammalian cells. *Biomaterials* 2005;26, 93–99 .
- 35.- Shor, L. et al. Precision extruding deposition (PED) fabrication of polycaprolactone (PCL) scaffolds for bone tissue engineering. *Biofabrication* 2009; 1, 015003.
- 36.- Guillemot, F. et al. High-throughput laser printing of cells and biomaterials for tissue engineering. *Acta Biomater.* 2010;6, 2494–2500 .
- 37.- Hamm, A., Krott, N., Breibach, I., Blindt, R. & Bosserhoff, A.K. Efficient transfection method for primary cells. *Tissue Eng.* 2002;8, 235–245.
- 38.- Yu, Z. et al. ROCK inhibition with Y27632 promotes the proliferation and cell cycle progression of cultured astrocyte from spinal cord. *Neurochem. Int.* 2012; 61, 1114–1120
- 39.- Keriquel, V. et al. In vivo bioprinting for computer- and robotic-assisted medical intervention: preliminary study in mice. *Biofabrication* 2010;2, 014101

## CAPITULO II

### EL MENISCO: ANATOMÍA, BIOMECÁNICA Y PROPIEDADES FUNCIONALES

#### Anatomía y composición meniscal

En anatomía, un menisco (del griego *μηνίσκος meniskos*, "creciente - en asociación a la luna - ") es una estructura fibrocartilaginosa en forma de media luna que, en contraste con un disco articular, sólo divide parcialmente una cavidad articular. En el cuerpo humano pueden encontrarse en la articulación acromioclavicular, temporomandibular, esternoclavicular, de la muñeca y la rodilla<sup>1</sup>. A este último es al que el resto de este texto hará referencia en todo momento.

La articulación de la rodilla contiene 2 meniscos, que comprenden tanto un componente medial como uno lateral situado entre el cóndilo femoral y la meseta tibial correspondientes. Cada uno es un tejido blanco brillante, compuesto por células, moléculas de matriz extracelular especializadas, e inervación y vascularización específica de la región. Ambos meniscos son componentes críticos de una articulación de la rodilla sana<sup>2,3</sup>. Los principales ligamentos estabilizadores son el ligamento colateral medial, el ligamento transverso, los ligamentos meniscofemorales y los anclajes en los cuernos anterior y posterior<sup>4</sup>. Los ligamentos menisco-femorales, también conocidos como los ligamentos de Humphrey y Wrisberg (figura 1), conectan el cuerno posterior del menisco lateral a un lugar cercano al sitio de inserción del ligamento cruzado posterior en el cóndilo femoral medial. Aunque sólo el 46% de las personas tienen ambos de estos ligamentos, el 100% de las personas tienen al menos uno de ellos<sup>3,4</sup>.

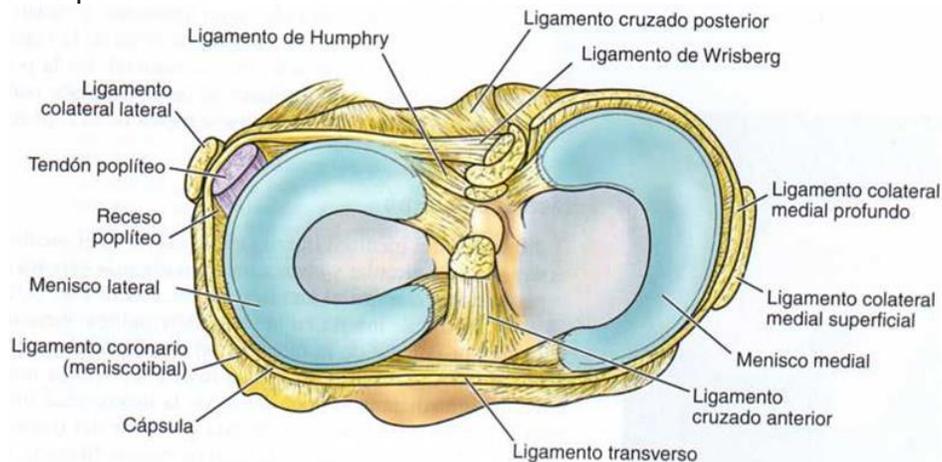


Figura 1. Anatomía del menisco: vista superior de la meseta tibial. Esta vista de la meseta tibial destaca los ligamentos de Humphrey y Wrisberg, que unen el menisco al fémur. Los meniscos están unidos entre sí a través del ligamento transverso. Las inserciones de los cuernos meniscales conectan la meseta tibial al menisco. Se observa también la relación con el tendón y el receso poplíteo.

Los meniscos humanos mediales y laterales tienen dimensiones claramente distintas: los meniscos laterales son aproximadamente de 32,4-35,7 mm de longitud

y 26,6-29,3 mm de ancho, mientras que los meniscos mediales son de 40,5-45,5 mm de largo y 27 mm de ancho.<sup>3,5</sup>

Aunque ambos meniscos son más bien cuneiformes y semi-lunares, los meniscos laterales muestran una mayor variedad en tamaño, forma, espesor y movilidad, también cubren una mayor porción de la meseta tibial (75-93% lateralmente) en comparación con meniscos mediales (51-74% medial) <sup>6</sup>.

En 2015, Śmigielski et al.<sup>11</sup> propusieron una nueva división anatómica del menisco medial en cinco zonas anatómicas diferentes (figura 2). Dentro de cada zona hay una anatomía similar y ligamentos idénticos que unen el menisco a las estructuras circundantes. Por lo tanto, no sólo la anatomía sino también la técnica de sutura para repararlos puede necesitar diferir entre las zonas: zona 1 o raíz anterior, zona 2 o anteromedial, zona 3 o a nivel del ligamento colateral medial, zona 4 o cuerno posterior y zona 5 o raíz posterior.

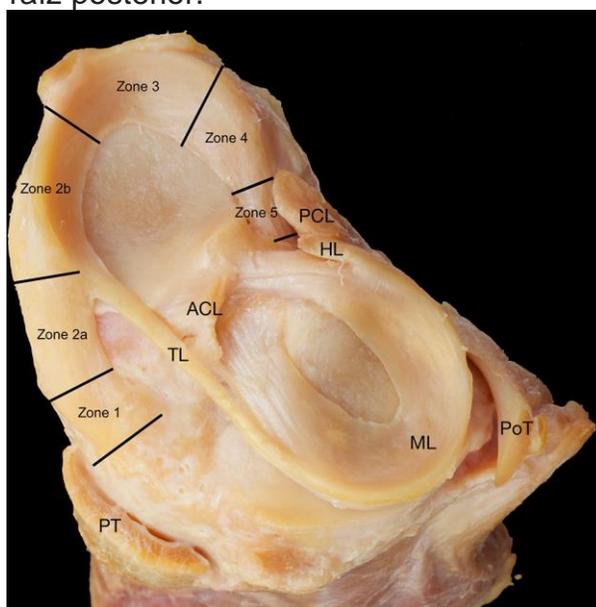


Figura 2. Disección anatómica que muestra las cinco zonas anatómicas dentro del menisco medial. **ACL** Ligamento cruzado anterior, **TL** ligamento transversal (ligamento intermeniscal anterior), **PT** tendón patelar, **PCL** ligamento cruzado posterior, **ML** menisco lateral, **PoT** tendón de musculo poplíteo, **HL** ligamento Humphry (ligamento menisco-femoral anterior). Retomado de Śmigielski R., et al 2015.

La vascularización en este tejido es de gran relevancia (figura 3). Desde el desarrollo prenatal hasta poco después del nacimiento, el menisco está completamente vascularizado. Después, sin embargo, la vascularización disminuye. El menisco adulto contiene vasos sanguíneos y nervios sólo en el 10-25% del tejido periférico. Posteriormente, se distinguen dos regiones distintas del menisco: la región externa, vascular / inervada (zona roja-roja) y la región interna, completamente avascular / no inervada (zona blanca-blanca). Estas dos áreas están separadas por la región roja-blanca, que presenta atributos tanto de las regiones roja-roja como blanca-blanca (es decir es transicional). De forma crítica, la capacidad de curación de cada área está directamente relacionada con la

circulación sanguínea, dejando a la región blanca susceptible a lesiones postraumáticas y degenerativas permanentes.<sup>3</sup>

El menisco juega un papel importante en la biomecánica y la tribología de la articulación de la rodilla. Ahora se reconoce que una lesión meniscal predispone al desarrollo de la osteoartritis. El tratamiento de la lesión meniscal a través de la cirugía artroscópica se ha convertido en uno de los procedimientos quirúrgicos ortopédicos más comunes, y en los Estados Unidos esto puede representar del 10 al 20% de los procedimientos relacionados con la rodilla. El menisco tiene una limitada capacidad de cicatrización y predominantemente solo en la periferia vascularizada (zona roja-roja) y por lo tanto, la reparación quirúrgica de las regiones avasculares no siempre es factible. El reemplazo y la reparación del menisco para tratar las lesiones se está investigando usando estrategias de la ingeniería del tejido. Por muy prometedores que sean estos enfoques, existen, sin embargo, grandes barreras para superar antes de ser trasladados a la clínica.<sup>6</sup>

Al igual que otros tejidos, el componente más abundante de los meniscos es el agua, constituyendo el 70% del peso total, y el 30% restante compuesto de materia orgánica. Aproximadamente el 90% del colágeno presente en los meniscos es el colágeno tipo I. Una importante red de colágeno tipo II también está presente en los meniscos; Sin embargo, esta red no es tan extensa como la red híbrida encontrada en el cartílago articular que incorpora el agregán-proteoglicano. También se ha demostrado que los tipos III, IV, V y VI están presentes en los meniscos, pero son componentes en menor proporción.<sup>6,9,10</sup>

Los proteoglicanos son moléculas muy glicosiladas que constituyen un componente importante de la matriz extracelular (MEC) del menisco<sup>3</sup>. Estas moléculas están formadas por un núcleo proteico que está rodeado de glicosaminoglicanos (GAG). Los principales tipos de GAG que se encuentran en el tejido meniscal humano normal son el sulfato de cinetano (60%), dermatán-sulfato (20-30%), el condroitin-sulfato (10-20%) y el sulfato de queratina (15%). El agregano es el mayor proteoglicano grande del menisco, mientras que el biglicano y la decorina son los principales proteoglicanos. La variación regional de estas moléculas también se ha observado, con los dos tercios internos que contienen una proporción relativamente mayor de proteoglicanos que el tercio externo. Su función principal es permitir que el menisco absorba agua, cuyo confinamiento sostiene el tejido bajo compresión. Las glicoproteínas de adhesión son también componentes indispensables de la matriz del menisco, ya que sirven como un enlace entre los componentes de MEC y las células. Las principales glicoproteínas de adhesión presentes en el menisco humano son la fibronectina, trombospondina y el colágeno tipo VI<sup>3</sup>.

Las poblaciones de células meniscales se clasifican en tres tipos de acuerdo a las diferentes regiones y la morfología celular (figura 3). El tercio externo (zona roja-roja) de un menisco está compuesto de células similares a fibroblastos, que demuestran una morfología alargada. Los dos tercios internos contienen principalmente fibrocondrocitos, que son predominantemente ovals a redondeados (similar a los condrocitos del cartílago hialino). También se ha reconocido una

tercera población celular en la zona superficial del menisco. Estas células poseen una morfología aplanada y fusiforme y están ausentes de prolongaciones celulares. Se ha sugerido que estas células son posiblemente células progenitoras específicas con capacidades terapéuticas y regenerativas<sup>3</sup>.

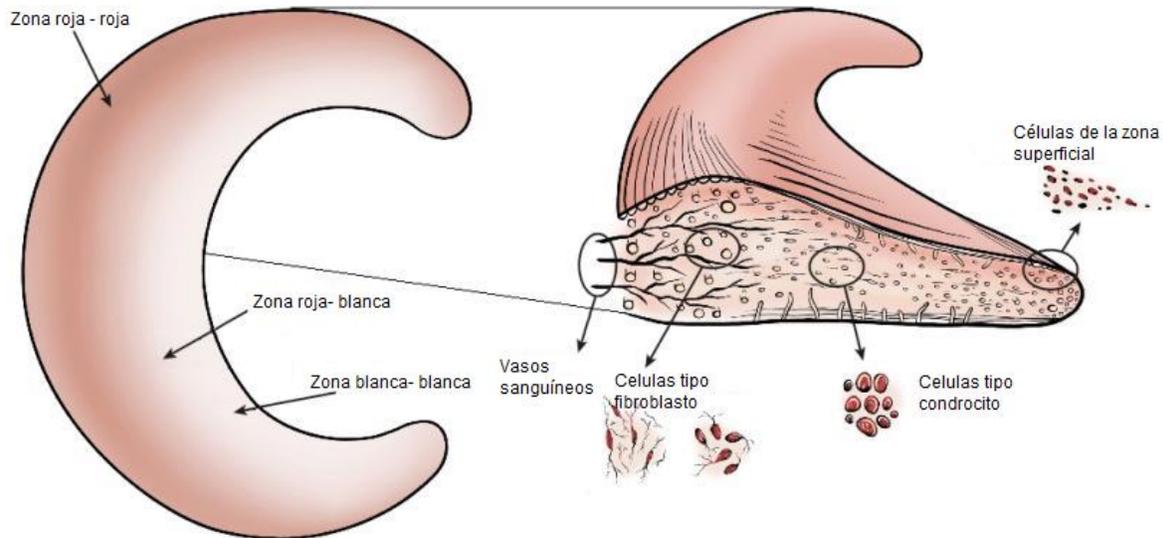


Figura 3. Variaciones regionales en la vascularización y poblaciones celulares del menisco. Izquierda: Aunque completamente vascularizada al nacer, los vasos sanguíneos en el menisco retroceden durante la madurez. En la edad adulta, la región roja-roja contiene la abrumadora mayoría de los vasos sanguíneos. Derecha: Las células de la sección vascularizada externa del menisco (región roja-roja) son en forma de huso, muestran procesos celulares y tienen un aspecto más fibroblástico, mientras que las células en la sección media (región rojo-blanca) (Región blanca-blanca) son más parecidas a los condrocitos, aunque son fenotípicamente distintos de los condrocitos. Las células de la capa superficial del menisco son pequeñas y redondas. Retomado y modificado de Makris EA, et al. 2011

## Biomecánica Meniscal

Durante la actividad cotidiana, las fuerzas tibiofemorales axiales comprimen los meniscos. La forma de cuña del menisco y sus cuernos sirven para convertir las fuerzas de compresión verticales en tensiones circulares horizontales. Al mismo tiempo, las fuerzas de cizallamiento se desarrollan entre las fibras de colágeno dentro del menisco, mientras que el menisco se deforma radialmente como respuesta a esto. La función del menisco se atribuye en gran parte a sus propiedades biomecánicas únicas:

**Viscoelasticidad:** Los meniscos humanos se consideran un material viscoelástico, lo que significa que a lo largo de una carga aplicada presentan propiedades tanto viscosas como elásticas. Esta transición se produce en una naturaleza dependiente del tiempo, comenzando en la fase elástica y desplazándose a la fase viscosa durante la carga. La calidad elástica o la fase "sólida" del menisco, se debe a su estructura colágeno-proteoglicana, donde la fase viscosa o "fluida" se debe a su permeabilidad y contenido de agua<sup>12,13</sup>. Cuando se aplica una carga de compresión a los meniscos, la fase sólida se presenta inicialmente con una respuesta elástica.

Al mismo tiempo, el fluido se extruye lentamente, lo que acomoda la carga de compresión sin exceso de deformación a partir de la fase viscosa<sup>14</sup>. Para ayudar a determinar las contribuciones de estas dos fases durante una carga aplicada, la teoría bifásica se desarrolló para describir el comportamiento mecánico de los tejidos viscoelásticos<sup>15</sup>. Una característica importante de esta teoría es la permeabilidad, lo que explica cómo el fluido se mueve a través de los poros interconectados en la matriz sólida de los meniscos y el espacio sinovial<sup>13</sup>. Bajo compresión, la permeabilidad meniscal determina la velocidad a la cual se extruye el fluido. La permeabilidad meniscal es mucho menor en comparación con el cartílago articular, dando la capacidad de mantener su forma durante las cargas axiales<sup>14</sup>. El menisco mantiene su capacidad de carga durante la marcha resistiendo a la pérdida de líquido<sup>16</sup>, que inhibe la compresión y mantiene su forma. Si los meniscos no mantuvieran su forma, serían esencialmente no funcionales<sup>14</sup>. Esto es importante de entender porque estos sistemas viscoelásticos. Las propiedades desempeñan un papel importante en las fuerzas resistentes a la compresión que poseen los meniscos.

**Respuesta a la compresión-** Cuando se aplica una carga constante a la articulación de la rodilla, hay una compresión inicial en los meniscos que se resiste por las características elásticas de los haces de colágeno y la matriz<sup>14</sup>. Después de esta carga inicial, hay una tasa disminuida de compresión a medida que la fase fluida empieza a tomar el relevo. A medida que el fluido es extruido a partir de los meniscos, se resiste la carga de compresión, que se denomina 'fluencia'<sup>12,14</sup>. Cuando los meniscos son comprimidos y retenidos, la carga requerida para mantener la compresión disminuye. El tejido del menisco se relaja y la carga necesaria para mantener la compresión retenida dada disminuye. Esto se conoce como "relajación del estrés". El deslizamiento y la relajación posterior al estrés son dos características relacionadas de comportamiento viscoelástico<sup>14</sup>. Estas dos propiedades ayudan a entender cómo funcionan los meniscos durante las cargas de compresión. Como se ha indicado anteriormente, es la permeabilidad del menisco, junto con estas dos propiedades, lo que les permite mantener su forma durante la compresión. Esto se apoya como el módulo de compresión para meniscos es mucho mayor en un fisiológico

En comparación con el equilibrio<sup>17</sup>, lo que demuestra que, bajo carga axial, más fuerza es necesaria para comprimir y, finalmente, afectar a la forma de los meniscos. Cuando se aplica una carga de compresión a los meniscos, una carga axial causa "tensiones en el aro" a las fibras circunferenciales de los meniscos que se extienden a sus fijaciones en la tibia y el fémur<sup>12</sup>. A medida que el fémur se comprime hacia abajo, los meniscos se extruyen periféricamente debido a su forma de cuña causando una fuerza tangencial radialmente orientada. Esta extrusión periférica se evita mediante los accesos meniscales anteriores y posteriores. A medida que se aplica una fuerza de compresión, se desarrolla una tensión circunferencial que resulta en tensiones concéntricas. Los meniscos se basan en la conversión de las cargas axiales a tensiones a través de estas fibras circunferenciales, que viajan a lo largo tanto a la inserción de la raíz anterior y posterior. Estas tensiones concéntricas permiten la distribución del estrés sobre una gran área del cartílago articular, una importante función de distribución de la carga de los meniscos<sup>18</sup>. Las tensiones

circunferenciales pueden variar a lo largo del menisco, y también pueden cambiar en respuesta a la lesión<sup>19</sup>, como un desgarro radial que interrumpe las fibras circunferenciales que resulta en un menisco disfuncional. Se ha informado de que la región posterior del menisco medial tiene un mayor módulo agregado que el resto de los meniscos<sup>20</sup>. Esto puede ser debido a que esta región sufre el mayor estrés de compresión y es el sitio más comúnmente lesionado<sup>14</sup>.

**Respuesta a la tensión** La tensión se refiere al comportamiento de un tejido a medida que se aplica una fuerza de estiramiento, lo que resulta en elongación. Cuando los meniscos sufren fuerzas de tensión, inicialmente se necesita poco para alargar los meniscos porque las fibras de colágeno están relajadas<sup>21</sup>. Después de la fase inicial, hay una relación lineal entre el alargamiento y la carga aplicada, seguido de una disminución súbita en la elongación pues las fibras se comienzan a romper y desgarrar. La carga máxima que los meniscos pueden mantener se denomina carga de tracción final. Las propiedades de tracción pueden cambiar dependiendo de la capa dentro de los meniscos. En la capa superficial, no hay diferencias en las resistencias a la tracción. Esto es diferente de la capa central porque las fibras circunferenciales y de unión responden de manera diferente a la deformación por tracción, con fibras circunferenciales que tienen un mayor módulo de tracción que las fibras de unión<sup>22</sup>. Cuando se comparan las diferentes regiones del menisco, se discute si existen diferencias significativas de la resistencia a la tracción entre las porciones anterior, media y posterior. Para el menisco medial, se ha informado de que el mayor módulo de tracción se encuentra en la región anterior<sup>23</sup>, así como la región posterior<sup>24</sup>. En el caso del menisco lateral, se ha informado de que la porción posterior tiene el módulo de tracción más alto y otros no muestran diferencias significativas en absoluto<sup>23</sup>. Un resumen de los diferentes módulos de tracción de Meniscos humanos se muestra en la tabla anexa<sup>25</sup>. En general, los meniscos tienen alrededor de un módulo de tracción de 150 MPa, donde el LCA estará en cualquier lugar de 200 a 300 MPa y polietileno será alrededor de 1000 MPa<sup>14</sup>.

**Respuesta al corte** La rigidez al cizallamiento es una medida de la resistencia de un material al cambio de forma. Los meniscos tienen una rigidez de corte bajo en relación con el cartílago, con cartílago articular siendo más de 100 veces más resistente a la cizalla<sup>26</sup>. Esta baja rigidez de cizallamiento puede permitir que los meniscos mantengan la congruencia óptima entre la tibia y el fémur a través de una gama completa de movimiento, asegurando una distribución uniforme de la carga<sup>12</sup>. Adicionalmente, las fibras de unión segregan las fibras circunferenciales que contribuyen al bajo módulo de cizallamiento de los meniscos<sup>27</sup>. También se ha encontrado que el módulo de corte es el más bajo en la porción posterior del menisco medial<sup>23</sup>.

### **Propiedades funcionales del menisco**

**Tamaño, Forma y Transmisión de Carga:** El tamaño y la forma de los meniscos juegan un papel importante en su función. El menisco medial cubre entre el 50 y el 54% de la superficie del cartílago articular tibial y el menisco lateral entre 59 y 71%

<sup>28</sup>. Cuando la rodilla se apoya durante la marcha, las tensiones de contacto pico en la meseta medial ocurren en la interfaz cartílago-cartílago, mientras que la escalada hace que el pico de contacto se mueva a la porción posterior de la meseta. Durante la marcha, el pico de tensión de contacto en la meseta tibial lateral se produce bajo el menisco, mientras que, en las últimas fases del pico de escalada, las áreas de contacto están en la interfaz cartílago-cartílago <sup>29</sup>. Además, hay una transferencia general de contacto desde la parte anterior del menisco al menisco posterior durante la flexión. El menisco lateral también se desplaza más que el medial durante la carga, con la transmisión de la carga alejándose del centro de los cóndilos femorales, dando como resultado un esfuerzo de tracción hacia la meseta tibial.

En la rodilla extendida bajo carga, el menisco medial toma en cualquier lugar de 40 a 60% de la carga, y el menisco lateral toma en cualquier lugar de 65 a 70% <sup>30</sup>. Los modelos de elementos finitos (Figura 4) muestran que el menisco transfiere el 62% de la carga axial total bajo la carga tibial anterior de 134 N y la carga de compresión de 1150 N (el menisco medial es del 40%). Además, durante una carga tibial posterior de 134 N y una carga de compresión de 1150 N, los meniscos transfieren el 75% de la carga axial total (60% por el menisco medial) <sup>31</sup>. Cubriendo una superficie grande, los meniscos actúan en la transmisión y distribución de la carga, aumentando la congruencia de los compartimentos tibiofemorales. Esto es importante porque las tensiones de contacto comienzan a aumentar a medida que las áreas de contacto superficial disminuyen y es la función de los meniscos disminuir estas tensiones de contacto maximizando el área de contacto. Esto es particularmente importante en el compartimento lateral, donde la superficie convexa del cóndilo femoral se articula con la superficie relativamente plana o convexa de la meseta tibial. La gran superficie del menisco lateral crea una articulación más congruente, distribuyendo así la carga de manera más uniforme a través del compartimento. Si los meniscos no están funcionando adecuadamente, las áreas de contacto disminuirán y las tensiones de contacto se incrementarán, lo que puede conducir a mayores tensiones en el cartílago articular.

Este concepto se resalta después de la meniscectomía, que reduce las áreas de contacto y aumenta las tensiones de contacto lo cual puede causar un aumento en el área de contacto en cualquier lugar del 40 al 75% y las tensiones de contacto resultantes a subir entre 200 y 300% <sup>19</sup>. Esto es importante porque existe una relación lineal entre la cantidad de menisco eliminado y el pico de tensión de contacto, apoyando la idea de conservar el menisco como sea posible y realizar una reparación del menisco sobre una meniscectomía.

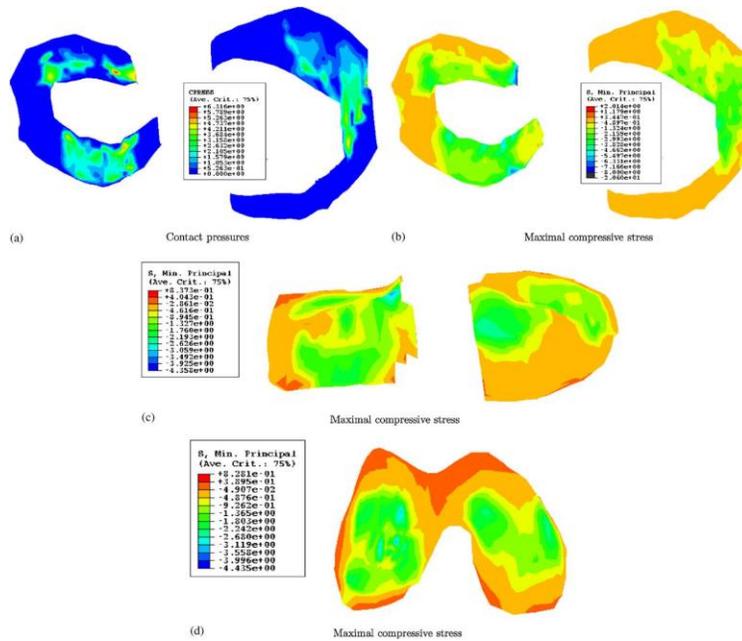


Figura 4. Análisis de elementos finitos en los meniscos de una rodilla sana. Estrés en los meniscos y los cartílagos articulares en respuesta a una carga de compresión de 1150N y una carga tibial anterior de 134N (MPa). (a) Presiones de contacto, (b) esfuerzo de compresión máximo, (c) esfuerzo de compresión máximo y (d) esfuerzo de compresión máximo. Retomado de Peña E, et al. 2006.

**Estabilidad de las articulaciones:** El tamaño y la forma de los meniscos permiten la congruencia entre el fémur y la tibia, con el menisco intacto se limita el exceso de movimiento en todas las direcciones y ayuda a estabilizar la articulación de la rodilla. El menisco medial es una importante restrictor secundario a la translación tibial anterior, con el menisco lateral tiene un papel secundario importante en la contención de las cargas axial y rotatoria combinadas. Esto es comprensible porque el menisco medial posee menor movilidad. Esto se debe a que la porción medial está unida a la cápsula y las porciones posteriores están firmemente unidas a la meseta tibial. También se cree que el menisco medial tiene un efecto de "cuña" creado por la compresión en el cuerno posterior durante la carga, evitando el desplazamiento anterior, especialmente en las rodillas con lesión de LCA <sup>33</sup>. Debido a la movilidad del menisco lateral, se cree que desempeña un papel menor en la estabilidad anterior comparado con el menisco medial <sup>34</sup>, pero estudios más recientes han destacado su importancia en el control de la laxitud rotatoria anterolateral <sup>35</sup>. Las capacidades de estabilización de la articulación de las rodillas por parte de los meniscos son más evidentes en las rodillas con lesión de LCA. Después de la meniscectomía medial en una rodilla con deficiencia de LCA, hay un aumento en la traducción tibial anterior y una disminución en la rotación tibial interna acoplada cuando se aplica una carga tibial anterior <sup>36</sup>. Además, hay un aumento significativo en el desplazamiento anterior en una rodilla con lesión de LCA más meniscectomía medial frente a la deficiencia de LCA únicamente <sup>33</sup>.

**Lubricación y nutrición:** Los meniscos son reportados a desempeñar un papel en la lubricación de la articulación de la rodilla <sup>37</sup>, y hay un aumento en el coeficiente de fricción después de la meniscectomía. Además, como se mencionó

anteriormente, la capa superficial de los meniscos tiene un gran contenido de proteoglicanos que permite una superficie de baja fricción para el cartílago articular con el que se opone.

También se cree que los meniscos desempeñan un papel nutricional en la articulación de la rodilla. Contienen una red porosa que conecta la vasculatura meniscal con el espacio sinovial. Se cree durante la compresión que el fluido es capaz de pasar de los meniscos en el espacio sinovial, ambos permitiendo el suministro de nutrientes y reduciendo las fuerzas de fricción en el cartílago articular.

**Propriocepción:** El papel propioceptivo de los meniscos está bien establecido, con múltiples informes que han encontrado una gran variedad de mecanorreceptores diferentes dentro del tejido <sup>38</sup>. Se han localizado corpúsculos de Pacini que median la sensación de movimiento de la articulación (adaptación lenta), además de las terminaciones de Ruffini y los tendones de Golgi que se cree que median la sensación de posición de la articulación. Los mecanorreceptores se encuentran principalmente en el tercio medio y externo de los meniscos e indican que los meniscos pueden tener un importante papel de retroalimentación sensorial en la rodilla <sup>39</sup>.

**Absorción de impacto:** Se cree generalmente que los meniscos actúan como amortiguadores prominentes de la articulación de la rodilla. Sin embargo, estos informes han sido recientemente criticados. Algunos creen que la capacidad de absorción de choque de la rodilla se atribuye en realidad a las contracciones excéntricas de los músculos que rodean la articulación de la rodilla y no a los meniscos. Más recientemente, se ha demostrado que la rigidez y la capacidad de disipación de energía de los meniscos son mucho menores que las del cartílago articular y que si los meniscos desempeñan un papel en la absorción de choque, es un papel secundario <sup>40</sup>.

**Movimientos funcionales de los meniscos:** El movimiento del menisco durante la flexión asegura la máxima congruencia sobre las superficies articuladas evitando lesiones. Es esta congruencia que permite que muchas de las acciones de los meniscos sean tan efectivas, como la transmisión de carga, la estabilidad y la lubricación. Esta congruencia se mantiene debido a la forma en que los meniscos se mueven a lo largo de un rango normal de movimiento. El menisco lateral puede moverse hasta dos veces más que el menisco medial, y los cuernos anteriores se mueven más que los cuernos posteriores. Esto es crítico porque la forma articular de los cóndilos femorales con los meniscos cambia durante la flexión y la extensión, haciendo que los cuernos anterior y posterior se separen durante la extensión completa y juntos durante la flexión. A medida que los cóndilos femorales giran sobre la tibia hacia la extensión, empujan las raíces meniscales anterior y posterior, respectivamente. Los cuernos anteriores permiten el movimiento para acomodar esto, mientras que los cuernos posteriores son más seguros, restringiendo el movimiento en exceso <sup>41</sup>. Esto permite que los meniscos maximicen las áreas de contacto con las superficies articulares, reduciendo las tensiones de contacto. Los movimientos de los meniscos mediales durante la flexión y la extensión bajo carga

se encuentran entre 2 y 5 mm en sentido antero-posterior y el menisco lateral entre 9 y 11 mm <sup>41</sup>. Además, durante la rotación interna, el menisco lateral se mueve hacia atrás, y el menisco medial se mueve hacia delante.

## REFERENCIAS

- 1.- *μηνίσκος*, "small moon", is diminutive of *μήνη*, "moon", from the root *ma-*, "measure", which reflects the fact the time was measured according to the phases of the moon. The word was also used for curved things in general, such as a necklace or a line of battle. (Lexicon of Orthopaedic Etymology, p 199)
- 2.- Kohn D., and Moreno B.: Meniscus insertion anatomy as a basis for meniscus replacement: a morphological cadaveric study. *Arthroscopy* 1995; 11: pp. 96-103
- 3.- Makris E, Hadidi P, Athanasiou K. The knee meniscus: Structure–function, pathophysiology, current repair techniques, and prospects for regeneration. *Biomaterials*. 2011;32(30):7411-7431.
- 4.- Turman K.A., and Diduch D.R.: Meniscal repair: indications and techniques. *J Knee Surg* 2008; 21: pp. 154-162
- 5.- Shaffer B., Kennedy S., Klimkiewicz J., and Yao L.: Preoperative sizing of meniscal allografts in meniscus transplantation. *Am J Sports Med* 2000; 28: pp. 524-533
- 6.- Hasan J, Fisher J, Ingham E. Current strategies in meniscal regeneration. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2013;102(3):619-634.
- 7.- Niu W, Guo W, Han S, Zhu Y, Liu S, Guo Q. Cell-Based Strategies for Meniscus Tissue Engineering. *Stem Cells International*. 2016; 2016:1-10.
- 8.- Melrose J, Smith S, Cake M, Read R, Whitelock J. Comparative spatial and temporal localisation of perlecan, aggrecan and type I, II and IV collagen in the ovine meniscus: An ageing study. *Histochem Cell Biol* 2005; 124:225–235.
- 9.- Tanaka T, Fujii K, Kumagae Y. Comparison of biochemical characteristics of cultured fibrochondrocytes isolated from the inner and outer regions of human meniscus. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 1999; 7:75–80.
- 10.- Guo W, Liu S, Zhu Y, Yu C, Lu S, Yuan M et al. Advances and Prospects in Tissue-Engineered Meniscal Scaffolds for Meniscus Regeneration. *Stem Cells International*. 2015; 2015:1-13.
- 11.- Śmigielski R, Becker R, Zdanowicz U, Ciszek B. Medial meniscus anatomy-from basic science to treatment. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc Off J ESSKA*. 2015;23(1):8–14.
- 12.- Andrews S. Meniscus structure and function: University of Calgary; 2013.
- 13.- Fithian DC, Kelly MA, Mow VC. Material properties and structure-function relationships in the menisci. *Clin Orthop Relat Res*. 1990; 252:19–31.
- 14.- McDermott ID, Masouros SD, Amis AA. Biomechanics of the menisci of the knee. *Curr Orthop*. 2008;22(3):193–201.
- 15.- Favenesi J, Shaffer J, Mow V. Biphasic mechanical properties of knee meniscus. *Trans Orthop Res Soc*. 1983; 8:57.
- 16.- Sweigart MA, Zhu CF, Burt DM, DeHoll PD, Agrawal CM, Clanton TO, et al. Intraspecies and interspecies comparison of the compressive properties of the medial meniscus. *Ann Biomed Eng*. 2004;32(11):1569–79.
- 17.- Chia HN, Hull ML. Compressive moduli of the human medial meniscus in the axial and radial directions at equilibrium and at a physiological strain rate. *J Orthop Res*. 2008;26(7):951–6.
- 18.- Assimakopoulos AP, Katonis PG, Agapitos MV, Exarchou EI. The innervation of the human meniscus. *Clin Orthop Relat Res*. 1992; 275:232–6.
- 19.- Jones RS, Keene GC, Learmonth DJ, Bickerstaff D, Nawana NS, Costi JJ, et al. Direct measurement of hoop strains in the intact and torn human medial meniscus. *Clin Biomech (Bristol, Avon)*. 1996;11(5):295–300.
- 20.- Hacker S, Woo S, Wayne J, Kwan M. Compressive properties of the human meniscus. *Trans Annu Meet Orthop Res Soc*. 1992;627
- 21.- Viidik A. Functional properties of collagenous tissues. *Int Rev Connect Tissue Res*. 1973;6(267):127–215.
- 22.- Tissakht M, Ahmed AM. Tensile stress-strain characteristics of the human meniscal material. *J Biomech*. 1995;28(4):411–22
- 23.- Sweigart M, Athanasiou KA. Biomechanical characteristics of the normal medial and lateral porcine knee menisci. *Proc Inst Mech Eng H J Eng Med*. 2005;219(1):53–62.
- 24.- Lechner K, Hull ML, Howell SM. Is the circumferential tensile modulus within a human

- medial meniscus affected by the test sample location and cross-sectional area? *J Orthop Res.* 2000;18(6):945–51.
- 25.- Halewood C, Masouros S, Amis AA. Structure and Function of the Menisci. In *Meniscal Allograft Transplantation - A Comprehensive Review*, DJO Publications. 2015.
- 26.- Zhu W, Chern KY, Mow VC. Anisotropic viscoelastic shear properties of bovine meniscus. *Clin Orthop Relat Res.* 1994;306:34–45.
- 27.- Nguyen AM, Levenston ME. Comparison of osmotic swelling influences on meniscal fibrocartilage and articular cartilage tissue mechanics in compression and shear. *J Orthop Res.* 2012;30(1):95–102.
- 28.- Bloecker K, Englund M, Wirth W, Hudelmaier M, Burgkart R, Frobell RB, et al. Revision 1 size and position of the healthy meniscus, and its correlation with sex, height, weight, and bone area- a cross-sectional study. *BMC Musculoskelet Disord.* 2011; 12:248.
- 29.- Gilbert S, Chen T, Hutchinson ID, Choi D, Voigt C, Warren RF, et al. Dynamic contact mechanics on the tibial plateau of the human knee during activities of daily living. *J Biomech.* 2014;47(9):2006–12.
- 30.- Dudhia J, McAlinden A, Muir P, Bayliss M. The meniscus—structure, composition, and pathology. In: Hazleman B, Riley G, Speed C, editors. *Soft tissue rheumatology part 1 the science of soft tissue disorders.* Oxford University Press; 2004. pp. 80–96.
- 31.- Pena E, Calvo B, Martinez MA, Doblare M. A three-dimensional finite element analysis of the combined behavior of ligaments and menisci in the healthy human knee joint. *J Biomech.* 2006;39(9):1686–701.
- 32.- Kurosawa H, Fukubayashi T, Nakajima H. Load-bearing mode of the knee joint: physical behavior of the knee joint with or without menisci. *Clin Orthop Relat Res.* 1980; 149:283–90.
- 33.- Levy IM, Torzilli PA, Warren RF. The effect of medial meniscectomy on anterior-posterior motion of the knee. *J Bone Joint Surg Am.* 1982;64(6):883–8.
- 34.- Lerer D, Umans H, Hu M, Jones M. The role of meniscal root pathology and radial meniscal tear in medial meniscal extrusion. *Skeletal Radiol.* 2004;33(10):569–74.
- 35.- Musahl V, Citak M, O'Loughlin PF, Choi D, Bedi A, Pearle AD. The effect of medial versus lateral meniscectomy on the stability of the anterior cruciate ligament-deficient knee. *Am J Sports Med.* 2010;38(8):1591–7.
- 36.- Allen CR, Wong EK, Livesay GA, Sakane M, Fu FH, Woo SL. Importance of the medial meniscus in the anterior cruciate ligament-deficient knee. *J Orthop Res.* 2000;18(1):109–15.
- 37.- Renström P, Johnson R. Anatomy and biomechanics of the menisci. *Clin Sports Med.* 1990;9(3): 523–38.
- 38.- Karahan M, Kocaoglu B, Cabukoglu C, Akgun U, Nuran R. Effect of partial medial meniscectomy on the proprioceptive function of the knee. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2010;130(3):427–31.
- 39.- Reider B, Arcand MA, Diehl LH, Mroczek K, Abulencia A, Stroud CC, et al. Proprioception of the knee before and after anterior cruciate ligament reconstruction. *Arthroscopy.* 2003;19(1):2–12.
- 40.- Andrews S, Shrive N, Ronsky J. The shocking truth about meniscus. *J Biomech.* 2011;44(16):2737–40.
- 41.- Vedi V, Williams A, Tennant SJ, Spouse E, Hunt DM, Gedroyc WM. Meniscal movement. An in-vivo study using dynamic MRI. *J Bone Joint Surg Br.* 1999;81(1):37–41.

## **CAPITULO III**

### **LESIONES MENISCALES: FISIOPATOLOGÍA, CLASIFICACIÓN Y TRATAMIENTO**

#### **Introducción**

Los meniscos tienen un papel importante en la función de la articulación de la rodilla.<sup>1</sup> Las lesiones meniscales siguen representando la segunda lesión intraarticular más frecuente de la rodilla y son la causa más frecuente de cirugía ortopédica en pacientes jóvenes.<sup>2,3</sup> En los Estados Unidos, la incidencia media anual de lesiones meniscales se ha informado que oscila entre 61 y 66 por cada 100.000 habitantes.<sup>1,4</sup> En México no contamos con una estadística como tal. La mayoría de ellas continúan siendo tratadas mediante una meniscectomía parcial o total.<sup>2</sup> Entre las lesiones de deportistas que afectan la rodilla, la mayoría involucra el ligamento cruzado anterior (ACL) (20,34%), seguido de la lesión del menisco medial (10.76%) y menisco lateral (3.66%).<sup>5</sup> Las lesiones meniscales son más frecuentes en hombres que en las mujeres, con una tasa de incidencia hombre a mujer oscilando entre 2.5: 1 y 4: 1. El pico de incidencia ocurre entre los 20 y los 29 años de edad para ambos sexos<sup>1,2,6</sup> y es más común en la rodilla derecha. A pesar de las lesiones meniscales pueden ocurrir en todas las edades y grupos, la edad del paciente tiene una gran influencia en los factores etiológicos y fisiopatológicos.<sup>3,7,8</sup> Las fuerzas que actúan en diferentes zonas y segmentos. Durante el movimiento normal y anormal son decisivos en el mecanismo de lesión de estas estructuras.<sup>6-11</sup>

Se ha reconocido que la pérdida total o parcial de un menisco trae consecuencias negativas a la rodilla, principalmente a largo plazo.<sup>12</sup> Grandes cambios han sido introducidos recientemente con respecto a su tratamiento. El paradigma ha cambiado "de una meniscectomía a la preservación o sustitución del menisco".<sup>13</sup> También se han creado técnicas artroscópicas lo cual ha sido una revolución en el tratamiento, y el desarrollo continuo de implantes y herramientas ha contribuido a un aumento importante en las opciones para el tratamiento.<sup>7</sup> En este capítulo abordaremos las principales lesiones meniscales con un enfoque hacia la población joven, su mecanismo de lesión, clasificación y sus principales opciones terapéuticas.

#### **Lesiones traumáticas meniscales en población joven**

Los meniscos pueden lesionarse traumáticamente durante una práctica deportiva o un trauma de alta energía o también pueden ocurrir en combinación con fracturas alrededor de la rodilla (fracturas de fémur metafisario distal con extensión parcial articular o articular y fracturas de meseta tibial).<sup>14</sup> Clínicamente la presentación de las lesiones agudas incluye dolor y / o hinchazón de la articulación de la rodilla. Cuando las lesiones son inestables pueden conducir a síntomas mecánicos tales como crepito o bloquear la rodilla.<sup>15</sup>

Las lesiones de menisco son más comunes en los pacientes jóvenes y personas activas, particularmente cuando practican deportes de nivel 1 de contacto que

comprenden frecuentemente un mecanismo de pivote sobre la rodilla, como el fútbol, el rugby o el fútbol americano.<sup>15</sup> Sin embargo, este tipo de lesiones pueden ocurrir después de actividades aparentemente inocuas tales como ir caminando, realizar sentadillas o permanecer en cuclillas.<sup>16</sup> El mecanismo traumático más frecuente es un movimiento de torsión la pierna mientras está flexionada la rodilla con una carga torsional o alta fuerza compresiva entre las superficies femoral y tibial.

El mecanismo traumático más frecuente es un movimiento de torsión en la rodilla mientras la pierna está doblada. La carga torsional o una alta fuerza de compresión entre las cabezas articular femoral y tibial (carga axial) pueden causar daños en el menisco en una extensión diferente.<sup>17</sup> El impacto en valgo con la rotación externa de la tibia también podría causar una tríada de lesiones que involucran daño meniscal con colateral medial asociado y desgarros de LCA.<sup>18,19</sup> Otro movimiento típico es una transición repentina de la hiperflexión de la rodilla a la extensión completa, atrapando el menisco atrapado entre el fémur y la tibia.<sup>17</sup> Como se ha mencionado anteriormente, el menisco lateral tiene una superficie articular más alta y por lo tanto participa en mayor proporción en la absorción y en la transmisión de la carga. También es más móvil y por lo tanto menos susceptible a una lesión en comparación con el menisco medial.<sup>20</sup>

Las principales quejas del paciente suelen ser dolor de rodilla e hinchazón. Estos son peores cuando la rodilla soporta cargas más altas (por ejemplo, cuando corre). Otra queja típica de un paciente es el bloqueo de la articulación, y los pacientes se refieren a que no pueden enderezar la pierna por completo. Esto puede ir acompañado de una sensación de "clic". Algunos pacientes también dan la impresión de inestabilidad.<sup>17</sup> Los pacientes a menudo pueden recordar un trauma, actividad o movimiento específico durante el cual ocurrió la lesión del menisco. El diagnóstico debe basarse principalmente en el examen clínico; sin embargo, la evaluación por RMN suele ser útil.<sup>21</sup> Las lesiones de menisco se pueden clasificar de varias maneras: por ubicación anatómica, por proximidad al suministro de sangre, etc. Pueden denominarse incompletas, completas, estables o inestables.<sup>22</sup>

Se han descrito varios patrones y configuraciones de desgarros (Tabla 1). Sin embargo, la importancia funcional de estas clasificaciones es, en última instancia, ayudar a los cirujanos a determinar si un menisco es reparable o no. Más recientemente, la clasificación de roturas de menisco de la ISAKOS se ha desarrollado para unir datos de ensayos clínicos internacionales diseñados para evaluar los resultados del tratamiento. El método ha demostrado tener suficiente fiabilidad interobservador.<sup>23</sup>

Varios factores de riesgo han sido implicados en la etiología de los desgarros meniscales degenerativos o agudos, siendo algunos de estos factores potencialmente modificables.<sup>24</sup> Existe evidencia moderada de que la carga de peso durante el trauma es un factor de riesgo importante para los desgarros meniscales agudos.<sup>25</sup>

La actividad deportiva parece ser un factor de riesgo relevante en estas lesiones.<sup>16,24,26</sup> Ciertos tipos de deportes, descritos como deportes de contacto, se han correlacionado con un mayor riesgo de lágrimas de menisco. El fútbol americano, el baloncesto, el fútbol, el béisbol y el esquí, en particular, son los que más participan en las lesiones del

menisco y representan más de un tercio de los casos.<sup>6</sup> Sin embargo, a pesar de su perfil de bajo contacto, la natación también se ha identificado como un factor de riesgo para las lágrimas agudas.<sup>26</sup> Existe cierta evidencia de que la ejecución también podría considerarse un factor de riesgo.<sup>24</sup> La laxitud articular global es otro factor de riesgo para los desgarros del menisco.<sup>1</sup> Estas personas con mayor riesgo deben incluirse en los programas de prevención.<sup>16</sup>

<b>Tipo de lesión</b>	<b>Comentario</b>
<b>Lesión longitudinal</b>	Lesiones meniscales más frecuentes. Representa el 29% de todas las lesiones mediales y el 33% de todas las lesiones laterales
<b>Lesión de mango de cubo o asa de balde</b>	Más frecuente en el menisco medial. Una lesión longitudinal completa puede progresar hasta convertirse en una lesión de asa.
<b>Lesiones oblicuas (o colgajo)</b>	Más frecuente en la región entre la mitad del cuerpo y los segmentos posteriores del menisco.
<b>Lesiones complejas</b>	Suele ser consecuencia de un traumatismo repetitivo de la rodilla.
<b>Lesiones radiales</b>	se originan más a menudo desde el borde libre hasta la periferia del menisco.
<b>Lesiones horizontales</b>	Las lágrimas horizontales suelen ser lesiones degenerativas.

Tabla 1. Patrones y configuraciones de lesiones meniscales

## **Clasificación**

A lo largo del tiempo, se han propuesto varios sistemas para la clasificación de las roturas de menisco considerando varios aspectos: por ubicación anatómica, por proximidad al suministro de sangre, etc. Se han descrito varios patrones y configuraciones de rotura.<sup>16,27-32</sup> Estas incluyen las siguientes:

### **Lesiones radiales**

Estas a menudo están relacionadas con el trauma y pueden ser completas o incompletas. Aparecen orientadas verticalmente y se extienden desde el borde interior del menisco hacia su periferia. Los desgarros radiales se definen en general como inestables.<sup>33</sup> En general, se consideraron como no reparables porque las fibras circunferenciales del aro están rotas y la mayor parte del desgarró es avascular. Sin embargo, la reparación de roturas meniscales radiales completas es una clave para restablecer la integridad mecánica necesaria para mantener la tensión del aro en el menisco. La reparación de los desgarros radiales se considera actualmente un desafío y representa una decisión difícil para el cirujano. El objetivo principal es lograr una reparación meniscal primaria estable. Esto se considera crucial para proporcionar una posibilidad de curación del menisco. La combinación de suturas mejorada por el uso y aplicación de coágulos de fibrina prefabricados ha permitido resultados positivos para el tratamiento de los desgarros radiales.<sup>34</sup>

#### Lesiones en aleta o pico de loro

Suelen ser desgarros radiales con una extensión circunferencial que crea una placa de tejido meniscal.

#### Lesiones periféricas, longitudinales

Este tipo de rupturas están generalmente orientadas verticalmente paralelas al borde del menisco, están relacionadas con un trauma y son la mayoría de las veces lágrimas ideales para reparar. En términos de desgarros de menisco parciales o muy cortos, un desgarro estable se define como un desgarro que no se puede desplazar con la manipulación.

#### Lesiones en asa de balde de mango de cubo

Cuando el fragmento interior de una ruptura longitudinal se desplaza hacia el surco intercondíleo, se conoce comúnmente con este nombre. Cuando sea posible, Estas lesiones deben ser reducidas y reparadas, puesto que representan una gran parte del tejido meniscal.

#### Lesiones de escisión horizontal

En este tipo de desgarro, se dividen las superficies superior e inferior del menisco. En la mayoría de los casos, los desgarros degenerativos ocurren con mayor frecuencia en personas mayores y esta es la morfología mas común. Los desgarros meniscales horizontales sintomáticos en pacientes jóvenes son una condición particular que a menudo se presenta como una lesión aislada de menisco grave. Una resección completa de este desgarro resultaría posteriormente en una meniscectomía subtotal. La reparación meniscal abierta de desgarros horizontales complejos que incluso se extienden a la zona vascular ha demostrado ser efectiva en el seguimiento a mediano plazo en pacientes jóvenes y activos con una tasa de fracaso baja.<sup>25</sup>

#### Lesiones complejas y degenerativas

El desgarro complejo es una combinación de otros desgarros que ocurrieron en múltiples planos. Aparecen con mayor frecuencia en pacientes de edad avanzada y en el cuerno posterior. Generalmente las lesiones complejas no son reparables y deben clasificarse según el patrón predominante pues generalmente incluyen dos o más patrones. Una lesión en el menisco lateral que se extiende parcial o completamente delante del hiato poplíteo debe clasificarse como central para el hiato poplíteo.

#### Lesiones de la raíz meniscal (Meniscal Root Tears-MRT)

Este tipo de desgarros de menisco se ha descrito recientemente y está recibiendo una atención creciente.<sup>26</sup> En general, los desgarros de las raíces son de naturaleza degenerativa y deben diferenciarse de los verdaderamente traumáticos.

Las lesiones de la raíz son raras y se asocian frecuentemente con un desgarro de LCA, particularmente en el cuerno posterior del menisco lateral. Han sido ignorados durante mucho tiempo, y algunos autores ahora defienden que deben ser evaluados sistemáticamente durante una reconstrucción de ACL.<sup>26</sup> Se pueden tratar mediante refijación tibial, utilizando un túnel transtibial.

En las MRT, la ruptura de las fibras de colágeno que justifican la resistencia de la resistencia del aro finalmente resultará en la extrusión de los meniscos y la pérdida de sus propiedades biomecánicas. El diagnóstico clínico es difícil, pero la resonancia magnética generalmente permite identificar la lesión. Por definición, los MRT se encuentran en la zona vascularizada del menisco. Por lo tanto, el tratamiento es preferentemente la reparación artroscópica, ya sea con suturas transóseas artroscópicas o con anclajes de sutura.<sup>35</sup>

### **Clasificación internacional**

La *ESSKA (Sociedad Europea de Traumatología Deportiva, Cirugía de Rodilla y Artroscopia)* e *ISAKOS (Sociedad Internacional de Artroscopia de Cirugía de Rodilla y Medicina Deportiva Ortopédica)* formaron un Subcomité de Documentación Meniscal en 2006 con el objetivo de desarrollar un sistema confiable, internacional de evaluación y altamente reproducible entre observadores de las lesiones meniscales para facilitar la evaluación de resultados.<sup>36</sup>

Después de 5 años, se informó que la confiabilidad interobservador de la clasificación ISAKOS de desgarros de menisco tuvo resultados aceptables para la clasificación de la profundidad, ubicación, el patrón de desgarro, la longitud, la calidad del tejido y el porcentaje de menisco lesionado.

La clasificación *ISAKOS- ESSKA* de desgarros de menisco proporciona suficiente confiabilidad interobservador para el agrupamiento de datos de ensayos clínicos internacionales diseñados para evaluar los resultados del tratamiento para desgarros de menisco.<sup>31</sup> A continuación se mencionan los componentes de la misma:

#### *I. longitud del desgarro*

La longitud del desgarro indica la longitud del desgarro del menisco que llega a la superficie del menisco. No incluye lesiones contenidas (IRM de grado I) que no llegan a la superficie del menisco.

#### *II. Profundidad de desgarro*

La profundidad de rotura refleja la clasificación de MRI de 0 a 3. Una profundidad de rotura de 3A es una rotura parcial que se extiende a través de la superficie superior o inferior. Un desgarro horizontal también puede ser un desgarro parcial de 3A. Un desgarro 3B es un desgarro completo que se extiende a través de las superficies superior e inferior del menisco.

#### *III. Ubicación*

El comité adoptó un sistema de clasificación de zona. La zona 1 incluye desgarros en la unión meniscosinovial y lágrimas con una amplitud al borde <3 mm. Los desgarros de la zona 2 tienen una amplitud al borde de 3 a <5 mm. Los desgarros de la zona 3 tienen una amplitud al borde ≥ 5 mm.

#### *IV. Patrón de desgarro*

El comité acordó el uso de un conjunto de términos para describir diferentes tipos de desgarros de menisco.

### *Desgarro longitudinal-vertical*

El desgarro longitudinal-vertical puede ubicarse en cualquier lugar a lo largo del menisco. La extensión de este desgarro puede dar lugar a un desgarro del mango del cucharón.

### *Desgarro horizontal*

El desgarro horizontal comienza en el margen interno del menisco y se extiende hacia la cápsula.

### *Desgarro radial*

El desgarro radial también comienza en el margen interno y se extiende hacia la cápsula. Este tipo de desgarro se localiza típicamente en la unión de los tercios medio y posteriores del menisco lateral. Estas lesiones pueden extenderse completamente a través del borde del menisco, transectando el menisco.

### *Lesión en colgajo*

Un desgarro en colgajo puede ser vertical u horizontal. El desgarro del colgajo vertical se extiende a través de las superficies inferior y superior del menisco. El desgarro del colgajo horizontal es una extensión del desgarro horizontal. En la superficie inferior o superior, el menisco puede permanecer intacto en un desgarro horizontal del colgajo.

### *Lesión compleja*

Este término describe patrones complejos que demuestran desgarros en varios planos.

## **Patrón y tratamiento de las lesiones meniscales**

Se ha dicho que la reparación meniscal, si es posible, proporciona mejores resultados clínicos y biomecánicos en comparación con la meniscectomía. Sin embargo, las reparaciones de menisco todavía tienen tasas de reoperación más altas en comparación con las meniscectomías. Según el mejor conocimiento disponible, la tasa de curación después de la reparación del menisco es: curación completa en el 60% de los casos, el 25% de la curación parcial y el 15% de los fracasos. Sin embargo, los meniscos con curación parcial o incompleta suelen ser asintomáticos, al menos a corto plazo. Ha habido un tremendo desarrollo de técnicas de sutura basadas en un mejor conocimiento de la ciencia básica. Como ejemplo representativo de la primera, una técnica reciente de sutura en dirección oblicua considerando las fibrillas de colágeno del menisco ha demostrado una fijación superior a la técnica estándar de doble sutura horizontal.

Según la literatura, la tasa de fracaso después de la reparación meniscal artroscópica varía de 5 a 43.5% (media, 15%). El volumen de la meniscectomía subsiguiente después de la reparación meniscal fallida no se incrementa en comparación con el volumen de meniscectomía que se habría realizado si no se hubiera realizado un intento de reparación en el primer abordaje. Teniendo en cuenta estos hechos, se puede concluir que hay pocos efectos perjudiciales cuando se sutura una lesión de menisco inicialmente considerada como "reparable".<sup>37,38,39</sup>

A pesar del riesgo conocido de fracaso, los posibles beneficios deben ponderarse en oposición a las consecuencias conocidas a largo plazo de la meniscectomía. La reparación meniscal artroscópica proporciona efectos protectores a largo plazo, incluso si la cicatrización inicial es incompleta. Los métodos de reparación pueden utilizar las técnicas de allinside, de adentro hacia afuera o de adentro hacia afuera, solo o en combinación.

El raspado o el aumento con coágulo de fibrina pueden ayudar a aumentar la tasa de curación. La meniscectomía siempre puede considerarse para los desgarros agudos complejos irreparables, pero actualmente se considera como una "última opción" debido a la conciencia de las consecuencias perjudiciales a largo plazo.

Además, la cantidad de tejido resecado está directamente implicada en las consecuencias de la meniscectomía.<sup>40</sup> En algunos casos, se puede combinar para resecar parcialmente parte del menisco, pero aun así suturar la parte reparable restante. Los pacientes deben recibir un consentimiento informado y, de acuerdo con expectativas realistas, deben participar en la elección del tratamiento final.

## REFERENCIAS

1. McDermott ID, Masouros SD, Amis AA (2008) Biomechanics of the menisci of the knee. *Curr Orthopaed* 22:193–201
2. Garrett WE Jr, Swiontkowski MF, Weinstein JN, Callaghan J, Rosier RN, Berry DJ, Harrast J, Derosa GP (2006) American board of orthopaedic surgery practice of the orthopaedic surgeon: part-II, certification examination case mix. *J Bone Joint Surg Am* 88(3):660–667. doi: 10.2106/JBJS.E.01208
3. Salata MJ, Gibbs AE, Sekiya JK (2010) A systematic review of clinical outcomes in patients undergoing meniscectomy. *Am J Sports Med* 38(9):1907–1916. doi:10.1177/0363546510370196
4. Baker BE, Peckham AC, Pupparo F, Sanborn JC (1985) Review of meniscal injury and associated sports. *Am J Sports Med* 13(1):1–4
5. Logerstedt DS, Snyder-Mackler L, Ritter RC, Axe MJ (2010) Knee pain and mobility impairments: meniscal and articular cartilage lesions. *J Orthop Sports Phys Ther* 40(6):A1–A35. doi: 10.2519/jospt.2010.0304
6. Makris EA, Hadidi P, Athanasiou KA (2011) The knee meniscus: structure-function, pathophysiology, current repair techniques, and prospects for regeneration. *Biomaterials* 32(30):7411–7431. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.06.037
7. Beaufi Is P, Englund M, Järvinen TLN, Pereira H, Pujol N (2014) How to share guidelines in daily practice on meniscus repair, degenerate meniscal lesion, and meniscectomy. In: Zaffagnini S, Becker R, Kerkhoffs GMMJ, Espregueira-Mendes J, van Dijk CN (eds) *ESSKA instructional course lecture book* Amsterdam 2014. Springer, Berlin/Heidelberg, pp 97–112
8. Noble J, Hamblen DL (1975) The pathology of the degenerate meniscus lesion. *J Bone Joint Surg* 57(2):180–186
9. Guilak F, Butler DL, Goldstein SA, Baaijens FP (2014) Biomechanics and mechanobiology in functional tissue engineering. *J Biomech* 47(9):1933–1940. doi: 10.1016/j.jbiomech.2014.04.019
10. McDevitt CA, Webber RJ (1990) The ultrastructure and biochemistry of meniscal cartilage. *Clin Orthop Relat Res* 252:8–18
11. Vedi V, Williams A, Tennant SJ, Spouse E, Hunt DM, Gedroyc WMW (1999) Meniscal movement. An invivo study using dynamic MRI. *J Bone Joint Surg B* 81(1):37–41. doi: 10.1302/0301-620X.81B1.8928
12. Fayard JM, Pereira H, Servien E, Lustig S, Neyret P (2010) Meniscectomy global results-complications. *The Meniscus*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. doi: 10.1007/978-3-642-02450-4
13. Verdonk R (2011) The meniscus: past, present and future. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 19(2):145–146. doi: 10.1007/s00167-010-1333-8
14. Ruiz-Iban MA, Diaz-Heredia J, Elias-Martin E, Moros-Marco S, Cebreiro Martinez Del Val I (2012) Repair of meniscal tears associated with

- tibial plateau fractures: a review of 15 cases. *Am J Sports Med* 40(10):2289–2295. doi: 10.1177/0363546512457552
15. Poulsen MR, Johnson DL (2011) Meniscal injuries in the young, athletically active patient. *Phys Sportsmed* 39(1):123–130. doi: 10.3810/psm.2011.02.1870
  16. Baker P, Coggon D, Reading I, Barrett D, McLaren M, Cooper C (2002) Sports injury, occupational physical activity, joint laxity, and meniscal damage. *J Rheumatol* 29(3):557–563
  17. Frizziero A, Ferrari R, Giannotti E, Ferroni C, Poli P, Masiero S (2012) The meniscus tear. State of the art of rehabilitation protocols related to surgical procedures. *Muscles Ligaments Tendons J* 2(4):295–301
  18. Dacombe PJ (2013) Shelbourne's update of the O'Donoghue knee triad in a 17-year-old male Rugby player. *BMJ Case Rep.* 2013. doi: 10.1136/bcr.01.2012.5593
  19. Shelbourne KD, Nitz PA (1991) The O'Donoghue triad revisited. Combined knee injuries involving anterior cruciate and medial collateral ligament tears. *Am J Sports Med* 19(5):474–477
  20. Masouros SD, McDermott ID, Amis AA, Bull AM (2008) Biomechanics of the meniscus-meniscal ligament construct of the knee. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 16(12):1121–1132. doi: 10.1007/s00167-008-0616-9
  21. Ryzewicz M, Peterson B, Siparsky PN, Bartz RL (2007) The diagnosis of meniscus tears: the role of MRI and clinical examination. *Clin Orthop Relat Res* 455:123–133. doi: 10.1097/BLO.0b013e31802fb9f3
  22. Pellacci F, Zmerly H, Sacco G (1997) Anatomia patologica dei menischi. *J Sports Traum Relat Res* 19:2–5
  23. Anderson AF, Irrgang JJ, Dunn W, Beaufls P, Cohen M, Cole BJ, Coolican M, Ferretti M, Glenn RE Jr, Johnson R, Neyret P, Ochi M, Panarella L, Siebold R, Spindler KP, Ait Si Selmi T, Verdonk P, Verdonk R, Yasuda K, Kowalchuk DA (2011) Interobserver reliability of the International Society of Arthroscopy, Knee Surgery and Orthopaedic Sports Medicine (ISAKOS) classification of meniscal tears. *Am J Sports Med* 39(5):926–932. doi: 10.1177/0363546511400533
  24. Snoeker BA, Bakker EW, Kegel CA, Lucas C (2013) Risk factors for meniscal tears: a systematic review including meta-analysis. *J Orthop Sports Phys Ther* 43(6):352–367. doi: 10.2519/jospt.2013.4295
  25. Friden T, Erlandsson T, Zatterstrom R, Lindstrand A, Moritz U (1995) Compression or distraction of the anterior cruciate injured knee. Variations in injury pattern in contact sports and downhill skiing.
  26. Baker P, Reading I, Cooper C, Coggon D (2003) Knee disorders in the general population and their relation to occupation. *Occup Environ Med* 60(10):794–797
  27. Gale DR, Chaisson CE, Totterman SM, Schwartz RK, Gale ME, Felson D (1999) Meniscal subluxation: association with osteoarthritis and joint space narrowing. *Osteoarthritis Cartilage* 7(6):526–532
  28. Englund M, Niu J, Guermazi A, Roemer FW, Hunter DJ, Lynch JA, Lewis CE, Torner J, Nevitt MC, Zhang YQ, Felson DT (2007) Effect of meniscal damage on the development of frequent knee pain, aching, or stiffness. *Arthritis Rheum* 56(12):4048–4054. doi: 10.1002/art.23071
  29. Angel KR, Hall DJ (1989) The role of arthroscopy in children and adolescents. *Arthroscopy J Arthrosc Relat Surg Off Publ Arthrosc Assoc North Am Int Arthrosc Assoc* 5(3):192–196
  30. Guo H, Maher SA, Spilker RL (2013) Biphasic finite element contact analysis of the knee joint using an augmented Lagrangian method. *Med Eng Phys* 35(9):1313–1320. doi: 10.1016/j.medengphy.2013.02.003
  31. Anderson AF (2003) Transepiphyseal replacement of the anterior cruciate ligament in skeletally immature patients. A preliminary report. *J Bone Joint Surg Am* 85-A(7):1255–1263
  32. Barrett GR, Field MH, Treacy SH, Ruff CG (1998) Clinical results of meniscus repair in patients 40 years and older. *Arthroscopy J Arthrosc Relat Surg Off Publ Arthrosc Assoc North Am Int Arthrosc Assoc* 14(8):824–829
  33. Hunter DJ, Buck R, Vignon E, Eckstein F, Brandt K, Mazzuca SA, Wyman BT, Otterness I, Hellio H, Pereira et al. Le Graverand MP (2009) Relation of regional articular cartilage morphometry and meniscal position by MRI to joint space width in knee radiographs. *Osteoarthritis Cartilage* 17(9):1170–1176. doi: 10.1016/j.joca.2009.04.001
  34. Fukubayashi T, Kurosawa H (1980) The contact area and pressure distribution pattern of the knee. A study of normal and osteoarthrotic knee joints. *Acta Orthop Scand* 51(6):871–879
  35. Englund M, Guermazi A, Gale D, Hunter DJ, Aliabadi P, Clancy M, Felson DT (2008) Incidental meniscal findings on knee MRI in middle-aged and elderly persons. *N Engl J Med*

- 359(11):1108–1115.  
doi:10.1056/NEJMoa0800777
36. Bursac P, Arnoczky S, York A (2009) Dynamic compressive behavior of human meniscus correlates with its extra-cellular matrix composition. *Biorheology* 46(3):227–237. doi: 10.3233/BIR-2009-0537
37. Fayard JM, Pereira H, Servien E, Lustig S, Neyret P (2010) Meniscectomy global results-complications. *The Meniscus*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. doi: 10.1007/978-3-642-02450-4
38. Huber J, Lisinski P, Kloskowska P, Gronek A, Lisiewicz E, Trzeciak T (2013) Meniscus suture provides better clinical and biomechanical results at 1-year follow-up than meniscectomy. *Arch Orthop Trauma Surg* 133(4):541–549. doi: 10.1007/s00402-013-1681-1
39. Paxton ES, Stock MV, Brophy RH (2011) Meniscal repair versus partial meniscectomy: a systematic review comparing reoperation rates and clinical outcomes. *Arthroscopy J Arthrosc Relat Surg Off Publ Arthrosc Assoc North Am Int Arthrosc Assoc* 27(9):1275–1288. doi: 10.1016/j.arthro. 2011.03.088
40. Englund M, Roos EM, Roos HP, Lohmander LS (2001) Patient-relevant outcomes fourteen years after meniscectomy: influence of type of meniscal tear and size of resection. *Rheumatology (Oxford)* 40(6): 631–639

## **CAPITULO IV**

### **MENISCECTOMÍA TOTAL COMO TRATAMIENTO QUIRÚRGICO DE LAS LESIONES MENISCALES Y SU CORRELACIÓN CON OSTEOARTROSIS SECUNDARIA TEMPRANA EN PACIENTES JÓVENES.**

Durante muchos años, la meniscectomía total fue el tratamiento preferido para los desgarros meniscales sintomáticos. Desde que Tapper y Hoover destacaron las altas tasas de osteoartritis después de la meniscectomía total<sup>1</sup>, la meniscectomía parcial ha sido el tratamiento más común para las lesiones de menisco. La meniscectomía parcial alivia el dolor y elimina los síntomas mecánicos asociados con un menisco dañado. Algunos de los beneficios de una meniscectomía parcial son que es un procedimiento mínimamente invasivo, el riesgo de complicaciones es bajo y permite un rápido retorno a la actividad. Sin embargo, si un paciente se somete a una reconstrucción simultánea de ligamento cruzado anterior (LCA) para permitir el regreso al deporte, estas ventajas pierden importancia.

Aunque la meniscectomía parcial tiene excelentes resultados a corto plazo, existen secuelas negativas a largo plazo para la eliminación de los tejidos del menisco, especialmente en pacientes con desgarros de LCA asociados.

Baratz et al. teorizó que, en ausencia de un menisco funcional, podría esperarse un resultado peor de la reconstrucción del LCA.<sup>2</sup> Varios estudios han confirmado que, en pacientes sometidos a reconstrucción con LCA, los que tienen una meniscectomía concomitante tienen más dolor a largo plazo y episodios de inflamación.<sup>3,4</sup> El estudio biomecánico ha demostrado que el menisco medial es un estabilizador secundario a la traslación anterior, particularmente en la rodilla con deficiencia de LCA.<sup>5</sup> La meniscectomía puede aumentar los síntomas de inestabilidad en la rodilla deficiente en LCA. Finalmente, se ha demostrado que la meniscectomía altera los patrones de carga y aumenta las presiones de contacto focales. La extirpación del tercio interno del menisco incrementó la tensión de contacto local máxima en un 65%.<sup>2</sup> Otro estudio mostró que la eliminación del 50% de los meniscos duplicaba las presiones de contacto.<sup>6</sup> Estas alteraciones en los patrones de carga pueden predisponer a la osteoartritis temprana. Muchos estudios clínicos han documentado osteoartritis prematura de rodilla después de una meniscectomía<sup>7-10</sup>, incluso en rodillas reconstruidas con ACL.<sup>10,11</sup> En una revisión de 100 rodillas reconstruidas de LCA, Pernin et al. encontraron que el riesgo de desarrollar osteoartritis a los 24,5 años de seguimiento se triplicó cuando se extrajo el menisco medial. Entre los pacientes con un menisco medial sano en el momento de la reconstrucción del LCA, el 61,4% tenía una calificación radiográfica normal o casi normal a los 24,5 años de seguimiento, en comparación con el 31,3% con una meniscectomía medial total. La incidencia de osteoartritis severa fue del 41% si se realizó una meniscectomía medial.<sup>12</sup> El efecto negativo de la meniscectomía es aún más pronunciado en las rodillas con insuficiencia de ACL. Neyret et al. encontraron una incidencia de osteoartritis del 100% a los 10 años de meniscectomía en la rodilla con deficiencia de LCA.<sup>13</sup> Claramente, la meniscectomía tiene efectos negativos en la articulación de la rodilla que se magnifican en las rodillas con deficiencia de LCA.

Dado que la mayoría de los desgarros de LCA / menisco combinados se producen en pacientes jóvenes y activos, minimizar el riesgo a largo plazo de la osteoartritis debe ser un objetivo principal del tratamiento. Hacia ese objetivo, el papel de la meniscectomía parcial ha disminuido a medida que las técnicas de reparación meniscal han mejorado. Actualmente, la principal indicación de una meniscectomía parcial en asociación con una reconstrucción del LCA es un desgarro del menisco donde las otras opciones de tratamiento tienen pocas probabilidades de éxito.<sup>14</sup> Las lesiones que cumplen con estos criterios incluyen desgarros meniscales degenerativos, patrones de desgarros complejos, los desgarros crónicos desplazados con deformación plástica y desgarros en la región blanca-blanca del menisco (ancho del borde superior a 8 mm) . También se puede presentar un argumento para realizar una meniscectomía parcial en pacientes menos activos mayores de 50 años, ya que los efectos nocivos de la meniscectomía disminuyen y, en caso de que se desarrolle OA, las opciones de reconstrucción son más adecuadas para los pacientes mayores.

La meniscectomía sin reconstrucción de LCA solo debe proponerse si se cumplen los cuatro criterios siguientes: (1) una lesión meniscal sintomática, (2) una lesión meniscal irreparable, (3) ausencia de laxitud de la rodilla en el examen clínico, y (4) una inactividad o paciente anciano.<sup>14</sup>

## **Introducción**

La osteoartrosis de la rodilla (ONK) comprende tres trastornos separados. La primera se llama *osteoartrosis espontánea primaria de la rodilla* (SPONK por sus siglas en inglés), que fue descrita por primera vez como una entidad distinta por Ahlback en 1968.<sup>15</sup> Se han identificado dos teorías principales de la etiología de la osteonecrosis, una lesión vascular arterial y un traumatismo directo, pero ninguna de ellas ha sido probada definitivamente. Clásicamente descritas como una lesión focal que ocurre en el cóndilo femoral medial de un paciente en su quinta o sexta década de vida, las mujeres se ven afectadas de tres a cinco veces más que los hombres.<sup>15-19</sup>

La segunda entidad de osteonecrosis de la rodilla se llama *osteoartrosis secundaria*, que se asocia con factores de riesgo y un pronóstico desfavorable. Con frecuencia, esta ON secundaria es una secuela de la terapia con esteroide prolongada utilizada para muchas afecciones médicas como la artritis reumatoide, el LES, el trasplante renal, el asma bronquial crónica, las lesiones cutáneas, etc. En los pacientes con ON secundaria, el 50% de los casos son bilaterales. y el 60% afecta el cóndilo femoral lateral. Pueden estar involucrados múltiples sitios (como la cabeza humeral, la cadera, el cóndilo humeral lateral, el astrágalo, etc.), pero los síntomas a menudo son menores en comparación con las lesiones osteonecróticas primarias que involucran un cóndilo completo. La ON secundaria puede ser multifocal (por ejemplo, involucrando tanto a los cóndilos femorales como a la meseta tibial).

Por último, una tercera entidad potencial de ON de la rodilla ha sido descrita por Brahma et al.<sup>20</sup> en 1991. Fue el primero en describir la aparición de osteoartrosis de la rodilla

que evolucionó después de la meniscectomía artroscópica de rutina. Desde entonces, la osteoartrosis en la rodilla postoperatoria se ha observado como una complicación de la meniscectomía artroscópica<sup>21,22</sup> y se conoce como *osteoartrosis de la rodilla "postartroscópica"*<sup>23</sup> o *'posmeniscectomía'*.<sup>21,24,25</sup> Dado que la osteonecrosis también se ha observado después de otras intervenciones artroscópicas, como el desbridamiento del cartílago<sup>26</sup> y la reconstrucción del LCA<sup>27</sup>, podría ser recomendable referirse a esta entidad como *ONPK: osteoartrosis en la rodilla postoperatoria* por sus siglas en inglés.

Este término ayuda a evitar posibles implicaciones médico-legales, de lo que se ha explicado anteriormente.<sup>19</sup> Hasta ahora, 49 casos de ONPK han sido reportados en la literatura.<sup>20-23,28-31,35,36</sup> En comparación con la gran cantidad de procedimientos artroscópicos de rodilla realizados en todo el mundo, la prevalencia de ONPK es muy baja. Se han discutido varios factores etiológicos para ONPK, pero la causa exacta sigue siendo desconocida. En contraste con la población de pacientes típicamente afectada por la osteonecrosis espontánea de la rodilla (SPONK), la ONPK tiende a afectar a pacientes más jóvenes (media, 58 años; rango, 21 a 82 años) con una distribución equitativa de género (23 mujeres y 24 hombres).<sup>17,32</sup>

### **Incidencia y epidemiología**

La prevalencia exacta de ONPK nunca ha sido evaluada, pero parece ser muy baja teniendo en cuenta la gran cantidad de meniscectomías artroscópicas.<sup>23</sup> Diez estudios clínicos con un total de 49 pacientes informaron ONPK después de una meniscectomía artroscópica.<sup>20-23,28-31,35,36</sup> En todos los casos, la meniscectomía se realizó antes de la evolución de ONPK. En los 49 pacientes, la RMN posoperatoria mostró signos compatibles con ONPK. Ambos sexos fueron igualmente afectados (25 hombres, 24 mujeres) con una edad media de 58 años (21-82 años).

Existe una clara asociación entre ONPK y desgarros meniscales mediales. De los 49 pacientes diagnosticados con una lesión de menisco antes de la artroscopia inicial, 43 tenían una rotura de menisco medial (87%) y 7 tenían una rotura de menisco lateral (13%). El cóndilo femoral medial se vio afectado predominantemente en el 82% (n = 41) de los casos, seguido de cóndilo femoral lateral en 8,5% (n = 5), meseta tibial lateral en 2,1% (n = 2) y meseta tibial medial en 2,1% (n = 1). La ubicación de la osteonecrosis se correlacionó geográficamente con la patología preexistente y los procedimientos artroscópicos en todos los estudios. En los casos de un desgarro meniscal medial, los cambios en la señal de MRI generalmente se restringían al cóndilo femoral medial.

Ningún paciente desarrolló osteonecrosis en el compartimento opuesto al sitio de la meniscectomía. De los siete pacientes con desgarro meniscal lateral, cuatro desarrollaron osteonecrosis del cóndilo femoral lateral y los otros dos desarrollaron osteonecrosis de la meseta tibial lateral. El 65% de los pacientes fueron diagnosticados con una lesión condral concomitante de grado variable. El compartimento medial se vio afectado en 33 pacientes (26 pacientes con condromalacia del cóndilo femoral medial, 7 pacientes con meseta tibial medial). ONPK no difiere de SPONK con respecto a la ubicación de las lesiones. La participación simultánea del cóndilo femoral medial con la tibia adyacente o el compartimento lateral parece ser muy rara tanto en ONPK como en

SPONK.<sup>20,37</sup> Sin embargo, pueden aparecer lesiones únicas distintas del cóndilo femoral medial tanto en SPONK como en ONPK.

Muscolo et al.<sup>22</sup> informaron sobre una serie de cinco pacientes mayores de 60 años que fueron seguidos con resonancias magnéticas seriadas; cada uno tenía un desgarró meniscal medial sintomático y desarrolló SPONK; no se realizó artroscopia. En todos los estudios citados, la meniscectomía se realizó antes de la evolución de ONPK. Aun así, sigue sin estar claro si SPONK y ONPK tienen diferentes etiologías.

### **Fisiopatología.**

La fisiopatología de la osteoartrosis posartroscópica sigue siendo conjetural. La teoría y principal para la etiología de la osteonecrosis ha sido identificada como un insulto vascular arterial. Según Prues-Latour et al.<sup>30</sup>, el aumento de la permeabilidad del cartílago dañado conduce a la fuga de líquido en el hueso subcondral, lo que lleva a un edema óseo subcondral y osteonecrosis posterior.

Fukuda et al.<sup>38</sup> citaron la mecánica de la rodilla alterada después de la meniscectomía, lo que llevó a fracturas por estrés subcondral y la penetración del líquido sinovial intraóseo como la causa de la osteonecrosis.

La artroscopia en sí misma se sugiere como una causa no degenerativa de la osteonecrosis,<sup>24,30</sup> aunque la razón inicial de la artroscopia es la rotura meniscal. Otras causas no degenerativas, como el uso de una bomba de irrigación o un torniquete durante la cirugía y la administración intraarticular preoperatoria de anestésico local, no se han asociado con osteonecrosis posterior.<sup>21-23</sup>

En la mayoría de los estudios, se pensó que los cambios degenerativos del cartílago y el menisco en el momento de la artroscopia eran responsables del desarrollo de osteonecrosis.<sup>21,23,39,40</sup> Sin embargo, el desgarró de menisco en sí mismo parece tener una asociación con el ON incluso antes de que se haya realizado la cirugía. La biomecánica alterada de la rodilla después de la meniscectomía también se consideró un factor predisponente para la osteoartritis.<sup>41</sup> En estos casos, se cree que un aumento de la presión de contacto tibiofemoral produce una fractura por insuficiencia del cartílago y hueso subcondral con fuga intraósea del líquido sinovial y osteonecrosis subsiguiente.<sup>38</sup>

Otros autores plantearon la hipótesis de si el cartílago patológico ha aumentado la permeabilidad del líquido sinovial, lo que podría conducir a un edema subcondral y la consiguiente osteonecrosis.<sup>36,39</sup> No está claro si existe una relación etiológica entre el daño degenerativo del menisco y el cartílago y la artroscopia o si es una mera coincidencia sin una relación causal debido a la alta prevalencia de desgarró meniscales degenerativos en pacientes ancianos en los que se observa osteonecrosis con mayor frecuencia.

Varios autores sugirieron que las lesiones descritas como osteonecrosis subcondral después de la meniscectomía en realidad representan una insuficiencia subcondral o

fracturas por estrés.<sup>42</sup> Esto fue sugerido por Yamamoto y Bullough<sup>43</sup> sobre la base de una cuidadosa evaluación histológica de pacientes con osteonecrosis de cadera y rodilla.

### **Historia del paciente, exploración física y diagnósticos diferenciales**

Los pacientes ancianos tienen una alta incidencia de desgarros meniscales degenerativos.<sup>44</sup> A menudo se presentan con dolor medial de rodilla de inicio súbito. Algunos pacientes se quejan de bloqueo. En el examen clínico, se puede encontrar un derrame leve junto con una línea articular medial sensible. Las radiografías estándar de la rodilla muestran con frecuencia un espacio articular preservado y sin signos de osteonecrosis.<sup>45</sup> La RM muestra lesiones meniscales degenerativas y daño condral. A veces, el edema de la médula ósea puede encontrarse en la meseta tibial. Si el tratamiento conservador con inyecciones, AINE y terapia física falla, la cirugía artroscópica suele ser el siguiente paso terapéutico a considerar.

En la artroscopia inicial, el cartílago del cóndilo femoral y la meseta tibial suelen estar intactos o solo muestran cambios degenerativos leves. El desgarro del menisco degenerativo generalmente es resecaado.

Los síntomas generalmente se resuelven. En algunos pacientes, sin embargo, los síntomas pueden persistir o incluso empeorar ocasionalmente.<sup>21-23</sup> Estos pacientes tienen hallazgos clínicos y de imágenes similares, que pueden ser indicativos de la evolución a la osteoartritis:

- Una línea interarticular disminuida junto con derrame en el examen postoperatorio consistente con un posible (re) desgarro del menisco operado
- Un patrón de edema de médula ósea (EMO) en el compartimento meniscectomizado en la RMN postoperatoria.

La importancia clínica de estos hallazgos es difícil de interpretar, ya que SPONK, ONPK y condromalacia pueden simular los síntomas del menisco y el EMO postoperatorio suele ser transitorio. En pacientes con síntomas persistentes o que empeoran después de la artroscopia de rodilla, se debe distinguir entre un diagnóstico omitido de osteonecrosis de la rodilla en etapa temprana (SPONK), una osteonecrosis en la rodilla postoperatoria (ONPK)<sup>21</sup>, y un desgarro meniscal recurrente.<sup>22</sup>

Puede ser difícil establecer un diagnóstico correcto debido a estos inconvenientes:

1. El dolor medial de la rodilla puede ser causado por un desgarro meniscal degenerativo, edema de la médula ósea o ambos.
2. Parece haber una asociación entre los desgarros meniscales mediales degenerativos y la evolución de SPONK.
3. Los signos, síntomas, hallazgos en las imágenes y el potencial de progreso son similares para ONPK y SPONK<sup>21</sup>, pero la artroscopia adicional en presencia de SPONK no diagnosticada puede acelerar la destrucción de la articulación.

4. La EMO en la RM es un patrón de señal frecuente pero no específico que puede estar relacionado con la isquemia (es decir, osteonecrosis, síndrome de edema de la médula ósea), mecánica (contusión ósea, microfractura) o reactiva (artrosis, EMO postoperatoria).

5. Se ha observado un intervalo de tiempo indefinido entre la aparición de los síntomas de osteonecrosis y los hallazgos de la RM ("período de ventana" del método de IRM para detectar SPONK).<sup>22,46</sup>

Con cambios constantes de BMO en la RM preoperatoria y postoperatoria, el diagnóstico de un SPONK preexistente es razonable. Sin cambios de BMO en la RM preoperatoria, se debe sospechar ONPK, pero como anteriormente, no se puede descartar SPONK. Sin una RM preoperatoria, SPONK, ONPK y lesiones transitorias deben incluirse en el diagnóstico diferencial, y el diagnóstico definitivo solo puede ser posible en retrospectiva.

### **Diagnóstico y hallazgos de imágenes**

Para diagnosticar la evolución de la osteoartritis, la RM es obligatoria para detectar el edema de la médula ósea (EMO). Dado que inicialmente solo se ven afectadas las estructuras de la médula ósea, la radiografía simple, la tomografía computarizada o la artroscopia no pueden demostrar estos cambios tempranos. Aunque la gammagrafía ósea es muy sensible para detectar cambios tempranos en la vascularización por el aumento de la acumulación de trazadores, su resolución espacial es deficiente y la diferenciación de otros trastornos con mayor captación es imposible.<sup>46,47</sup>

De acuerdo con la literatura, los siguientes dos requisitos previos deben cumplirse simultáneamente para establecer el diagnóstico de ONPK en evolución<sup>23,46-48</sup> :

- Ausencia de osteonecrosis en la RM preoperatoria obtenida 4–6 semanas después del inicio de los síntomas preoperatorios
- Una asociación oportuna entre la artroscopia de rodilla y un patrón de BMO sospechoso en la RMN posoperatoria

Para establecer el diagnóstico de ONPK avanzado e irreversible, la RM preoperatoria debe mitigar el diagnóstico de SPONK faltante, y debe estar presente uno de los siguientes dos hallazgos:

- Hallazgos patognomónicos de osteonecrosis avanzada en radiografías simples, RMN o TC, como signo de media luna o colapso de hueso subcondral y cartílago articular
- Hallazgos histológicos compatibles con osteonecrosis de la lesión reseca durante una cirugía de rescate

### **Historia natural y factores pronósticos del ONPK**

El pronóstico cuando se desarrolla ONPK en una rodilla comprometida después de la artroscopia no está claro.<sup>23</sup> Hasta ahora, Al-Kaar et al.<sup>28</sup> es el único autor que ha correlacionado los cambios de MRI en diferentes etapas de ONPK. En su serie de diez pacientes, observó al comienzo de la enfermedad una gran área de edema intramedular no específico con baja intensidad de señal en imágenes ponderadas en T1 y con

intensidad de señal alta heterogénea en imágenes ponderadas en T2. Aproximadamente 3 meses después de la cirugía, el edema disminuyó y apareció un área central de necrosis claramente definida. Esta área mostró una intensidad de señal muy alta en imágenes ponderadas en T2 y una banda subcondral con baja intensidad de señal en imágenes ponderadas en T1 y T2, relacionada con una porción variable de hueso medular impactado y necrótico. Durante las siguientes etapas, se produjo el secuestro del hueso (baja intensidad de señal en imágenes ponderadas en T1 y T2 con un borde completo de intensidades de señal muy altas) y se observó el desarrollo de cuerpos libres o un aplanamiento residual de la superficie articular. Al-Kaar creía que la banda subcondral de hueso osteosclerótico tiene un significado pronóstico y que su grosor es proporcional al riesgo de secuestro óseo.<sup>28</sup>

Sin embargo, estos hallazgos dependen principalmente de la calidad de la resolución de la RM y pueden variar entre las diferentes configuraciones de RM. Además, los cambios de señal mencionados anteriormente en ONPK no difieren sustancialmente de los hallazgos de la RM en pacientes diagnosticados con SPONK.<sup>48</sup>

Está bien documentado que el tamaño de la lesión en SPONK es un factor pronóstico y guía el tratamiento. El tamaño de la lesión puede medirse en imágenes ponderadas en T1 como el área de baja intensidad de señal, evaluarse según el método de Lotke y referirse como un porcentaje del diámetro del cóndilo femoral medial.<sup>18</sup> Las lesiones grandes con un diámetro superior al 50% tienen un mal pronóstico, no responden a una terapia conservadora y deben tratarse quirúrgicamente antes del desarrollo de una deformidad fija.

En los pacientes con ONPK, el tamaño de la lesión rara vez se ha correlacionado con el resultado. Johnson et al.<sup>23</sup> informaron acerca de cinco de sus siete pacientes con ONPK que se deterioraron rápidamente y requirieron cirugía posterior a un promedio de 7.6 meses después de la artroscopia (rango: 5-9 meses). En los cinco pacientes, el tamaño de la lesión fue mayor que el 40% del área del cóndilo femoral medial en la RM postartroscópica. Muscolo et al.<sup>22</sup> informaron acerca de cinco pacientes con ONPK con un tamaño promedio de la lesión del 24% (rango: 12-30%).

Estos hallazgos sobre el tamaño de la lesión en ONPK no confirman el valor pronóstico del tamaño de la lesión conocida de SPONK. Parece que incluso cambios relativamente pequeños en la médula ósea en la RMN posoperatoria conducen con frecuencia a osteonecrosis. Se necesitan estudios adicionales que relacionen los factores potencialmente pronósticos con el resultado.

## REFERENCIAS

1. Tapper EM, Hoover NW (1969) Late results after meniscectomy. *J Bone Joint Surg Am* 51(3):517–526, passim
2. Baratz ME, Fu FH, Mengato R (1986) Meniscal tears: the effect of meniscectomy and of repair on intraarticular contact areas and stress in the human knee. A preliminary report. *Am J Sports Med* 14(4):270–275
3. Dejour H, Dejour D, Ait Si Selmi T (1999) Chronic anterior laxity of the knee treated with free patellar graft and extra-articular lateral plasty: 10-year followup of 148 cases. *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot* 85(8):777–789
4. McConville OR, Kipnis JM, Richmond JC, Rockett SE, Michaud MJ (1993) The effect of meniscal status on knee stability and function after anterior cruciate ligament reconstruction. *Arthroscopy* 9(4):431–439
5. Morgan CD, Wojtys EM, Casscells CD, Casscells SW (1991) Arthroscopic meniscal repair evaluated by second-look arthroscopy. *Am J Sports Med* 19(6):632–637; discussion 637–638
6. Pena E, Calvo B, Martinez MA, Doblare M (2006) A three-dimensional finite element analysis of the combined behavior of ligaments and menisci in the healthy human knee joint. *J Biomech* 39(9):1686–1701
7. Bolano LE, Grana WA (1993) Isolated arthroscopic partial meniscectomy. Functional radiographic evaluation at five years. *Am J Sports Med* 21(3):432–437
8. Hazel WA Jr, Rand JA, Morrey BF (1993) Results of meniscectomy in the knee with anterior cruciate ligament deficiency. *Clin Orthop Relat Res* (292):232–238
9. Lynch MA, Henning CE, Glick KR Jr (1983) Knee joint surface changes. Long-term follow-up meniscus tear treatment in stable anterior cruciate ligament reconstructions. *Clin Orthop Relat Res* (172):148–153
10. Neyret P, Donell ST, Dejour H (1993) Results of partial meniscectomy related to the state of the anterior cruciate ligament. Review at 20 to 35 years. *J Bone Joint Surg Br* 75(1):36–40
11. Aglietti P, Zaccherotti G, De Biase P, Taddei I (1994) A comparison between medial meniscus repair, partial meniscectomy, and normal meniscus in anterior cruciate ligament reconstructed knees. *Clin Orthop Relat Res* 307:165–173
12. Pernin J, Verdonk P, Si Selmi TA, Massin P, Neyret P (2010) Long-term follow-up of 24.5 years after intraarticular anterior cruciate ligament reconstruction with lateral extra-articular augmentation. *Am J Sports Med* 38(6):1094–1102
13. Neyret P, Walch G, Dejour H (1988) Intramural internal meniscectomy using the Trillat technic. Longterm results of 258 operations. *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot* 74(7):637–646
14. Beaufls P, Hulet C, Dhenain M, Nizard R, Nourissat G, Pujol N (2009) Clinical practice guidelines for the management of meniscal lesions and isolated lesions of the anterior cruciate ligament of the knee in adults. *Orthop Traumatol Surg Res* 95(6):437–442
15. Ahlback S, Bauer GC, Bohne WH (1968) Spontaneous osteonecrosis of the knee. *Arthritis Rheum* 11: 705–733
16. Aglietti P, Insall JN, Buzzi R, Deschamps G (1983) Idiopathic osteonecrosis of the knee. Aetiology, prognosis and treatment. *J Bone Joint Surg Br* 65:588–597
17. Al-Rowaih A, Wingstrand H, Lindstrand A, Bjorkengren A, Thorngren KG, Gustafson T (1990) Three-phase scintimetry in osteonecrosis of the knee. *Acta Orthop Scand* 61:120–127
18. Lotke PA, Abend JA, Ecker ML (1982) The treatment of osteonecrosis of the medial femoral condyle. *Clin Orthop* 171:109–116
19. Pape D, Seil R, Anagnostakos K, Kohn D (2007) Postarthroscopic osteonecrosis of the knee. *Arthroscopy* 23:428–438
20. Brahme SK, Fox JM, Ferkel RD, Friedman MJ, Flannigan BD, Resnick DL (1991) Osteonecrosis of the knee after arthroscopic surgery: diagnosis with MR imaging. *Radiology* 178:851–853
21. Faletti C, Robba T, de Petro P (2002) Postmeniscectomy osteonecrosis. *Arthroscopy* 18:91–94
22. Muscolo DL, Costa-Paz M, Makino A, Ayerza MA (1996) Osteonecrosis of the knee following arthroscopic meniscectomy in patients over 50-years old. *Arthroscopy* 12:273–279
23. Johnson TC, Evans JA, Gilley JA, DeLee JC (2000) Osteonecrosis of the knee after arthroscopic surgery for meniscal tears and chondral lesions. *Arthroscopy* 16:254–261
24. Kobayashi Y, Kimura M, Higuchi H, Terauchi M, Shirakura K, Takagishi K (2002) Juxta-articular bone marrow signal changes on magnetic resonance imaging following arthroscopic meniscectomy. *Arthroscopy* 18:238–245
25. Patel DV, Breazeale NM, Behr CT, Warren RF, Wickiewicz TL, O'Brien SJ (1998) Osteonecrosis of the knee: current clinical concepts. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 6:2–11

26. Herber S, Runkel M, Pitton MB, Kalden P, Thelen M, Kreitner KF (2003) Indirect MR-arthrography in the follow up of autologous osteochondral transplantation. *Rofo* 175:226–233
27. Athanasian EA, Wickiewicz TL, Warren RF (1995) Osteonecrosis of the femoral condyle after arthroscopic reconstruction of a cruciate ligament. Report of two cases. *J Bone Joint Surg Am* 77:1418–1422
28. Al Kaar M, Garcia J, Fritschy D, Bonvin JC (1997) Aseptic osteonecrosis of the femoral condyle after meniscectomy by the arthroscopic approach. *J Radiol* 78:283–288
29. DeFalco RA, Ricci AR, Balduini FC (2003) Osteonecrosis of the knee after arthroscopic meniscectomy and chondroplasty: a case report and literature review. *Am J Sports Med* 31:1013–1016
30. Prues-Latour V, Bonvin JC, Fritschy D (1998) Nine cases of osteonecrosis in elderly patients following arthroscopic meniscectomy. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 6:142–147
31. Santori N, Condello V, Adriani E, Mariani P (1995) Osteonecrosis after arthroscopic medial meniscectomy. *Arthroscopy* 11:220–224
32. Berger CE, Kroner A, Kristen KH, Minai-Pour M, Leitha T, Engel A (2005) Spontaneous osteonecrosis of the knee: biochemical markers of bone turnover and pathohistology. *Osteoarthritis Cartilage* 13(8):716–721
33. Mainil-Varlet P, Monin D, Weiler C, Grogan S, Schaffner T, Zuger B, Frenz M (2001) Quantification of laser-induced cartilage injury by confocal microscopy in an ex vivo model. *J Bone Joint Surg Am* 83-A:566–571
34. Polousky JD, Hedman TP, Vangsness CT Jr (2000) Electrosurgical methods for arthroscopic meniscectomy: a review of the literature. *Arthroscopy* 16:813–821
35. Kusayama T (2003) Idiopathic osteonecrosis of the femoral condyle after meniscectomy. *Tokai J Exp Clin Med* 28:145–150
36. Moynot JC, Huynh-Moynot S, Baynat C, Perchoc A, Schiele P, Gunepin F-X, Buisson P (2013) Postoperative osteonecrosis of the knee secondary to arthroscopic meniscectomy: Update of the literature. *Revue de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique* 99(4 Supplement):S120–S129
37. Soucacos PN, Johnson EO, Soultanis K, Vekris MD, Theodorou SJ, Beris AE (2004) Diagnosis and management of the osteonecrotic triad of the knee. *Orthop Clin North Am* 35:371–381
38. Fukuda Y, Takai S, Yoshino N, Murase K, Tsutsumi S, Ikeuchi K, Hirasawa Y (2000) Impact load transmission of the knee joint-influence of leg alignment and the role of meniscus and articular cartilage. *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 15:516–521
39. Rozbruch SR, Wickiewicz TL, DiCarlo EF, Potter HG (1996) Osteonecrosis of the knee following arthroscopic laser meniscectomy. *Arthroscopy* 12:245–250
40. Soucacos PN, Xenakis TH, Beris AE, Soucacos PK, Georgoulis A (1997) Idiopathic osteonecrosis of the medial femoral condyle. Classification and treatment. *Clin Orthop* 1997;(341):82–89
41. Yao L, Stanczak J, Boutin RD (2004) Presumptive subarticular stress reactions of the knee: MRI detection and association with meniscal tear patterns. *Skeletal Radiol* 33:260–264
42. Hall FM (2005) Osteonecrosis in the postoperative knee. *Radiology* 236:370–371
43. Yamamoto T, Bullough PG (2000) Spontaneous osteonecrosis of the knee: the result of subchondral insufficiency fracture. *J Bone Joint Surg Am* 82:858–866
44. Christoforakis J, Pradhan R, Sanchez-Ballester J, Hunt N, Strachan RK (2005) Is there an association between articular cartilage changes and degenerative meniscus tears? *Arthroscopy* 21:1366–1369
45. Pape D, Seil R, Kohn D, Schneider G (2004) Imaging of early stages of osteonecrosis of the knee. *Orthop Clin North Am* 35:293–303
46. Marmor L, Goldberg RT (1992) Failure of magnetic resonance imaging in evaluating osteonecrosis of the knee. *Am J Knee Surg* 5:195–201
47. Rudberg U, Ahlback SO, Uden R, Rydberg J (1993) Radiocolloid uptake in spontaneous osteonecrosis of the knee. A case report. *Clin Orthop*. 25–29
48. Lecouvet FE, van de Berg BC, Maldague BE, Lebon CJ, Jamart J, Saleh M, Noel H, Malghem J (1998) Early irreversible osteonecrosis versus transient lesions of the femoral condyles: prognostic value of subchondral bone and marrow changes on MR imaging. *AJR Am J Roentgenol* 170:71–77
49. Pape D, Seil R, Anagnostakos K, Kohn D (2007) Postarthroscopic osteonecrosis of the knee. *Arthroscopy* 23:428–438
50. Pape D, Seil R, Fritsch E, Rupp S, Kohn D (2002) Prevalence of spontaneous osteonecrosis of the medial femoral condyle in elderly patients. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 10:233–240

## **CAPITULO V**

### **INGENIERÍA DE TEJIDOS ENFOCADA HACIA LA GENERACIÓN DE UN IMPLANTE MENISCAL IMPRESO EN 3D**

En los Estados Unidos, las lesiones meniscales representan la lesión intraarticular de la rodilla más frecuente y son la causa más frecuente de intervenciones quirúrgicas realizadas por cirujanos ortopédicos. Se ha informado que la incidencia anual media de lesiones meniscales es de 66 por 100.000 habitantes, 61 de los cuales resultan en meniscectomía. Los hombres son más propensos a estas lesiones que las mujeres, con una proporción de incidencia de hombres a mujeres entre 2,5: 1 y 4: 1, y la incidencia general de pico a los 20-29 años de edad para ambos sexos. Las lesiones meniscales se encuentran con mayor frecuencia en la rodilla derecha y se presentan en todos los grupos de edad, con los principales factores etiológicos y fisiopatológicos variando y dependiendo en gran medida de la edad del paciente <sup>1,2</sup>.

La mayoría de las lesiones de menisco requiere la eliminación del menisco roto (meniscectomía parcial o total). Aunque la meniscectomía disminuye el dolor temporalmente, incluso la meniscectomía parcial conduce a la osteoartritis (OA) debido a su papel crucial en la protección del cartílago articular <sup>3</sup>. La reparación del menisco podría ser una mejor opción; sin embargo, debido a su pobre potencial curativo, las indicaciones para la reparación del menisco son limitados, y las tasas de fracaso se mantienen relativamente altas <sup>4</sup>.

Aunque en la actualidad se están incrementando los datos para apoyar el uso de sustitución de menisco con aloinjerto y sustitutos artificiales de menisco en casos avanzados de pérdida meniscal, incluso con indicaciones apropiadas, estas opciones se ven afectadas por la falta de eficacia universal y disponibilidad limitada. Por esta razón, los enfoques de ingeniería tisular y el aumento biológico de la reparación y reemplazo del menisco son consideraciones importantes. En este texto se hace hincapié en las bases de la ingeniería de tejidos y la probable metodología para obtener un menisco con bioimpresión 3D.

#### **Introducción a la ingeniería de tejidos para el desarrollo de implantes meniscales**

El término “ingeniería de tejidos” involucra un campo del saber naciente a partir del desarrollo de biomateriales y se refiere a la práctica de combinar andamios, células y moléculas biológicamente activas en tejidos diana funcionales. El objetivo de la ingeniería tisular es ensamblar construcciones funcionales que restauren, mantengan o mejoren tejidos dañados o órganos enteros. La piel artificial y el cartílago son ejemplos de tejidos diseñados por ingeniería de tejidos que han sido aprobados por la FDA; sin embargo, actualmente tienen un uso limitado en humanos. Este campo representa un potencial recurso en el futuro para la adquisición de tejido vivo con fines médicos para la restauración de múltiples lesiones en el organismo, tal es el caso específico del reemplazo de un menisco.

Se han utilizado varios injertos de tejido para el reemplazo del menisco, incluyendo aloinjerto meniscal humano, implantes de submucosa del intestino delgado (SID) y injertos de tendón autógeno. Milachowski y Wirth realizaron el primer trasplante de aloinjerto meniscal libre en 1984 <sup>5</sup>. Actualmente, el trasplante meniscal se considera como una opción de tratamiento alternativa para pacientes sintomáticos seleccionados que tuvieron una meniscectomía completa o subtotal previa. El trasplante de aloinjerto meniscal mejora la función de la rodilla y reduce el dolor significativamente en pacientes relativamente jóvenes después de corto y medio plazo de seguimiento <sup>6,7</sup>. Sin embargo, el hecho de que los aloinjertos meniscales proporcionan beneficios de protección a largo plazo para el cartílago sigue siendo un tema discutible, como el tejido puede degenerar con el tiempo, lo que lleva a un debilitamiento de las propiedades del material, extrusión, y contracción del injerto <sup>8</sup>. Los SID y los injertos de tendón autógenos no han obtenido resultados satisfactorios <sup>9,10</sup>. Por estas razones es necesario ahondar en nuevas alternativas como la bioimpresión 3D en búsqueda de implantes más parecidos al tejido original, y hechos a la medida del paciente. Revisaremos a continuación los elementos básicos útiles en la ingeniería de tejidos.

## **Andamios**

Los andamios para la ingeniería de tejidos (enfocada a los implantes meniscales) se pueden clasificar en cuatro clases generales: polímeros sintéticos, hidrogeles, compuestos de matriz extracelular (MEC), o materiales derivados de tejidos. Los polímeros sintéticos son materiales que no existen en el cuerpo, o que al menos no se encuentran en forma de polímero. Los hidrogeles son coloides hidrófilos capaces de contener grandes cantidades de agua, y pueden derivarse de fuentes naturales o sintéticas. Los andamios de MEC están compuestos de materiales enteros formados principalmente por una macromolécula componente de matriz natural, tal como colágeno o hialuronano. Finalmente, los materiales derivados de tejidos incluyen andamios de MEC descelularizada y otros componentes o subproductos significativos de tejido vivo tal como submucosa intestinal delgado. No obstante, es importante destacar que estas cuatro categorizaciones no son mutuamente excluyentes y sirven más bien como una guía amplia para apreciar diferencias significativas en las propiedades entre los andamios. También existen híbridos y compuestos entre estos materiales <sup>2</sup>.

Con respecto a los andamios artificiales, los materiales biológicos y sintéticos para la regeneración del tejido meniscal tienen ventajas inherentes específicas, respectivamente. La ventaja principal de un andamiaje biológico de menisco es que típicamente contienen factores bioactivos que pueden promover funciones celulares deseables tales como adhesión celular, proliferación y diferenciación. Además, se derivan de materiales naturales que son generalmente altamente biocompatibles, y se degradan rápidamente. Por otro lado, las desventajas incluyen la variabilidad de lote a lote, la posibilidad de transferencia de patógenos, propiedades mecánicas inferiores y un control limitado sobre las propiedades fisicoquímicas. Además, los materiales naturales son complejos y no están bien caracterizados. Por lo tanto, es difícil determinar la base mecanicista de sus efectos sobre la función celular. Estudios han informado de la utilización de un andamio de colágeno reforzada por una red de fibras

de polímero derivados de tirosina degradables que ha demostrado resistencia circunferencial a la tracción, rigidez, y comportamiento tensión circunferencial bajo carga de compresión que imita el menisco normal <sup>11</sup>.

El constructo de un <<menisco ideal>> sobresale en tres criterios fundamentales: su mecánica, la bioactividad y logística (Cuadro 1, figura 1). Dado que la carga heterogénea sobre el menisco ocurre todos los días in vivo, las propiedades mecánicas apropiadas, la anisotropía tisular, la geometría y la lubricación son requisitos del criterio mecánico. Cualquier constructo de menisco implantado también necesitará mostrar suficiente bioactividad. Esto significa el mantenimiento del fenotipo celular, la inducción de síntesis de MEC, la falta de inmunogenicidad y la capacidad para la integración del huésped-tejido. Por último, la logística de una construcción exitosa no debe ser difícil de manejar: la oferta, la procesabilidad, la esterilización y la eventual implantación quirúrgica deben ser prácticas <sup>13</sup>.

Criterio a calificar	Andamios sintéticos	Andamios de hidrogeles	Andamios compuestos de matriz extracelular	Andamios derivados de tejidos
Mecánica	***	*	***	**
Bioactividad	*	**	**	****
Logística	****	****	***	*

Cuadro 1. Las principales características de los biomateriales para la ingeniería del tejido meniscal se clasificaron en tres criterios principales. Las categorías fueron calificadas cualitativamente de una a cuatro estrellas en mecánica (propiedades mecánicas, geometría, anisotropía, lubricación), bioactividad (fenotipo celular, síntesis de MEC, inmunogenicidad, potencial para la integración del tejido huésped) y logística (suministro, procesabilidad y esterilización del material, facilidad de implantación quirúrgica). Retomado de Makris EA, et al. 2011 y modificado por Olivos-Meza A. & Cesar- Juárez AA. 2017

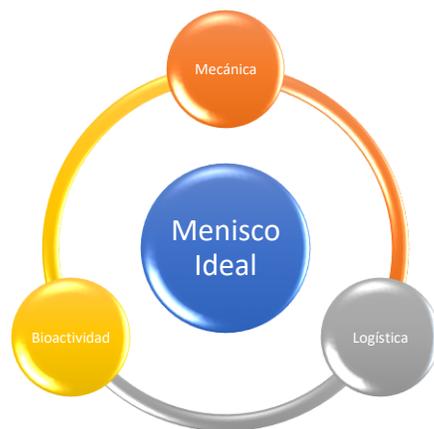


Figura 1. El constructo del menisco ideal y sus características.

El ácido poliglicólico (PGA), el ácido poliláctico (PLA) y la policaprolactona (PCL), son ampliamente utilizados y han desempeñado un papel clave en la fabricación de andamios de menisco sintéticos <sup>2, 12</sup>. Estos polímeros proporcionan varias ventajas, tales como versatilidad, propiedades biomecánicas satisfactorias y disponibilidad potencial como un implante "fuera de la plataforma". Sin embargo, algunas desventajas de los polímeros sintéticos incluyen sus propiedades hidrófobas, falta de bioactividad y producción de inflamación aséptica o una respuesta inmune<sup>2</sup>.

Los hidrogeles (naturales o sintéticos) son bioquímicamente versátiles y pueden utilizarse como sistemas de suministro de células y de factores de crecimiento. Aunque sus propiedades biomecánicas pueden ser adaptadas algo por la concentración del sustrato y la composición, a menudo se quedan cortas de las propiedades meniscales nativas. Para superar este problema, Holloway et al. propuso un compuesto que contiene fibras de peso molecular ultra-alto en un hidrogel de alcohol de polivinilo (PVA) y varió la composición y la orientación de las fibras para imitar las propiedades de menisco nativas para la sustitución meniscal total. Tras la implantación en un modelo cadavérico dinámico, se encontró que esta construcción restauraba la mecánica de contacto a un nivel comparable al del trasplante de menisco alogénico <sup>14</sup>.

En general, los andamios compuestos de MEC muestran una mezcla de rasgos deseables entre la mecánica, la bioactividad y la logística. Esta categoría puede ser la más prometedora entre los enfoques basados en andamios para la ingeniería del tejido meniscal. Sin embargo, la tecnología y el uso de estos materiales es relativamente nuevo, y la incorporación y desarrollo eficientes de tejido de reemplazo adecuado dentro de los andamios MEC in vivo e in vitro sigue siendo un tema para más investigación. La introducción de la lubricación apropiada y la modulación de la cinética de degradación del andamio del componente ECM, también presentan oportunidades para más investigación en ingeniería de tejidos funcionales <sup>2,15</sup>.

A pesar de sus ventajas, los andamios de menisco derivados de tejidos sufren de varios inconvenientes. La infiltración celular uniforme y la preservación de la mecánica y de los principales componentes de la MEC, como los GAG, son dos áreas para futuras investigaciones. Además, el rendimiento biológico y mecánico después de la recelularización y la implantación in vivo representan áreas para exploración adicional. Algunos trabajos se han hecho en este sentido con ratas. Los injertos mostraron la migración celular y aumentaron la rigidez compresiva durante 4 semanas, pero el colágeno y el contenido de GAG no se estudiaron. Es necesario seguir trabajando en este ámbito. Al reunir algunos de los enfoques reseñados anteriormente, puede ser posible resolver estos problemas. Sin embargo, los obstáculos de suministro, esterilización y estandarización de andamios derivados de tejidos todavía necesitan ser tratados para obtener una solución de ingeniería de tejidos a gran escala <sup>2,16</sup>.

Sin embargo, el desafío clave de usar andamios impresos en 3D para tratar las lesiones del menisco consiste en reproducir las complejas características estructurales y mecánicas del tejido nativo. Por lo tanto, es imperativo desarrollar un espacio de diseño que relacione las propiedades intrínsecas de los andamios con los resultados específicos del tejido, como la infiltración celular, la composición de la matriz y las

propiedades mecánicas. Estas se convierten por lo tanto en las características que todo andamio impreso debe cumplir.

## **Fuentes celulares**

La terapia celular representa una estrategia de intervención prometedora para promover la regeneración funcional de los tejidos dañados, así como para el aumento de los enfoques basados en andamios. Las células utilizadas para el trasplante pueden clasificarse como células diferenciadas o de células madre. Las células del menisco (fibrocondrocitos) y los condrocitos son células diferenciadas que se utilizan principalmente para la regeneración del menisco. Ambos tipos de células se han incorporado con éxito en complejos célula-andamio y demuestran resultados prometedores tanto en estudios in vitro como in vivo. La abrumadora cuestión con estos tipos de células es la disponibilidad. El uso de células de menisco y condrocitos autólogos requieren un proceso operativo de dos etapas, para recolectar el tejido primero, seguido por aislamiento celular y cultivo, y luego posterior implantación quirúrgica.

En cuanto a las células madre, las células madre mesenquimales (MSCs por sus siglas en inglés) son el tipo celular más frecuente estudiado en estudios básicos y clínicos debido al hecho de que son de fácil acceso desde los sitios del tejido conectivo periféricos tales como la médula ósea <sup>17</sup>, el periostio, adiposo, y la sinovial.

Además, se ha demostrado que tienen un buen perfil de seguridad. El interés científico en expansión en estas células se debe a dos factores principales. En primer lugar, se ha observado que las MSCs se diferencian en muchos tipos de células diferenciadas terminalmente, incluyendo osteoblastos, condrocitos, adipocitos y miocitos, y por lo tanto representan un medio potencial atractivo para regenerar los tejidos conectivos dañados incluyendo estructuras intraarticulares de la rodilla, como el menisco<sup>18</sup>.

En segundo lugar, las MSCs secretan una gran variedad de citoquinas y otros factores de soporte trófico y contribuyen al proceso de cicatrización del tejido lesionado proporcionando mediadores tróficos paracrinos. El trasplante de MSCs expandidas o modificadas es un enfoque prometedor para el aumento biológico de la cicatrización del menisco. La literatura reciente ha sugerido que las células madre mesenquimales derivadas de tejido sinovial pueden tener el potencial para ayudar en la curación y la regeneración de lesiones del cartílago, tales como las que implican el menisco <sup>18</sup>. Las células madre mesenquimales sinoviales representan una fuente celular atractiva porque pueden ser recolectadas de una manera mínimamente invasiva a partir del tejido sinovial y se expanden fácilmente en cultivo. Además, múltiples investigadores han encontrado que las células madre mesenquimatosas sinoviales in vitro poseen una particularmente alta capacidad de diferenciación y proliferación condrogénica comparación con las células madre mesenquimáticas obtenidas a partir de otros tejidos, tales como la médula ósea o periostio <sup>19</sup>.

Las células madre embrionarias y las células madre pluripotentes inducidas han demostrado ser una fuente emergente de células para la ingeniería de tejido

fibrocartilaginoso. Algunas de las principales características que hacen que esta fuente de células ideal para la ingeniería de tejidos son la pluripotencia y la capacidad proliferativa final. Los intentos hacia la ingeniería tisular del menisco usando estas fuentes de células están todavía en la fase temprana.

### **Señalización bioquímica y biomecánica**

El suministro de señalización biofísica y bioquímica está destinado a estimular mecanismos de reparación endógena mediante el reclutamiento de células del huésped en lugar de requerir la supervivencia de células exógenas implantadas. Las señales para aplicaciones de ingeniería tisular se clasifican típicamente como proteínas recombinantes (factor de crecimiento), hormonas y moléculas pequeñas. Varios estudios in vitro e in vivo han evaluado los efectos del tratamiento con factores de crecimiento específicos de menisco. Por ejemplo, se utilizó FGF básico (bFGF) para estimular la producción de colágeno tipo II y ARNm de agregano en células meniscales. En un modelo experimental ovino, fibrocondrocitos meniscales respondieron a bFGF por la proliferación y la producción de nueva MEC. Se ha demostrado que el factor de crecimiento 2 de fibroblastos recupera la expansión monocapa de células meniscales. El factor de crecimiento derivado de plaquetas-AB (PDGF-AB) juega un papel importante en la angiogénesis y el desarrollo celular <sup>2</sup>.

La aplicación de PDGF-AB en la parte periférica de los meniscos resultó en una mejor respuesta de curación de la aplicación en la parte central <sup>21</sup>. Sin embargo, este factor de crecimiento anabólico aumentó tanto la proliferación celular como la formación de ECM en todas las zonas del menisco, incluida la zona avascular. El PDGF-AB también mejora la migración de células meniscales. La suplementación con el factor de crecimiento ha demostrado una mejor migración celular, proliferación y producción de matriz y una mejor diferenciación celular global, pero consideraciones traslacionales importantes incluyen determinar el modo óptimo de administración y localización del efecto de citoquina en el sitio deseado. Actualmente se hace hincapié en la optimización del momento de entrega y el perfil de liberación de estos diferentes reguladores biológicos <sup>2</sup>.

### **Trasplante de aloinjerto meniscal**

Los objetivos de un reemplazo meniscal son disminuir el dolor y la inflamación en pacientes después de la meniscectomía, para prevenir o retrasar la progresión a osteoartritis, y para mejorar la estabilidad de la articulación de la rodilla. El trasplante de aloinjerto meniscal (TAM) es la única opción terapéutica actual para el reemplazo meniscal total. Actualmente se utilizan dos tipos de aloinjertos meniscales para el reemplazo meniscal: fresco (con células viables) y congelado.

Los aloinjertos liofilizados ya no se utilizan debido a la alteración estructural y contracción causada por esta técnica de conservación. Los aloinjertos congelados son actualmente el tejido más utilizado debido a la disponibilidad de tejido más fácil. Los estudios comparativos que se han realizado no han mostrado una clara ventaja con el uso de tejido del menisco fresco <sup>22</sup>.

Las indicaciones para el trasplante meniscal son estrictas. Este procedimiento generalmente se limita a pacientes menores de 50 años, con rodilla estable, bien alineada, artrosis mínima y con dolor significativo. El grado de OA presente tiene un efecto decisivo sobre el resultado final, y este procedimiento está contraindicado en osteoartritis severa. En pacientes con inestabilidad de la rodilla e indicaciones para el injerto meniscal, es necesario estabilizar la articulación mediante reconstrucción del ligamento antes o en simultáneo con el trasplante de menisco. En el caso de desalineación, se requiere una osteotomía correctiva. Los principios básicos para los cirujanos que realizan este procedimiento incluyen lograr o restablecer la alineación y estabilidad normales de la rodilla; lograr la implantación de un injerto no irradiado de tamaño similar con fijación segura de los cuernos meniscales; obtener una fijación segura del menisco a la cápsula y asegurar que los pacientes vuelvan sólo a actividades deportivas moderadas para maximizar las posibilidades de supervivencia del injerto.

En general, la mayoría de los estudios clínicos informan mejoría en los síntomas de la rodilla en los datos a corto y medio plazo <sup>23</sup>. Este procedimiento se considera actualmente como un enfoque provisional para la preservación conjunta, para los pacientes jóvenes con menisco deficiente para los que no tenemos otras buenas opciones.

Las limitaciones asociadas con los aloinjertos de menisco incluyen la disponibilidad limitada de injerto, el potencial para la transmisión de patógenos, el rechazo inmune y el desajuste anatómico. Además, pueden producirse desgarros degenerativos, extrusión y contracción del implante, todos los cuales pueden afectar la función a largo plazo del trasplante. Las lesiones meniscales usualmente ocurren en el sitio de fijación del cuerno posterior o en la región central avascular del tejido, y los factores biomecánicos como un alto estrés de contacto son un posible mecanismo causal.

Varios estudios han descrito la contracción (reducción del tamaño) después de TAM; Sin embargo, ningún estudio ha cuantificado específicamente la tasa o el grado de contracción que se produce. Lee et al. informaron de que las alteraciones morfológicas que se determinaron por el ancho y el espesor, se observaron durante el primer año postoperatorio con una reducción sustancial en la mitad del cuerpo que se produjo progresivamente durante 1 año en 16.1% de los casos, pero no tenía asociación con los resultados clínicos a corto plazo.

La extrusión del menisco también ha sido reportada como una complicación después del trasplante de menisco.

Los diversos grados de contracción, degeneración y extrusión del injerto que se observan con resonancia magnética nuclear (RMN) a menudo no se correlacionan con los síntomas. Por ejemplo, la mayoría de los estudios clínicos no han encontrado que la extrusión afecte los resultados clínicos en los seguimientos a medio y largo plazo; sin embargo, existe la preocupación de que tal extrusión conduzca a un mayor riesgo de osteoartritis. La extrusión del injerto después de TAM puede verse afectada por la fijación del cuerno, que difiere entre el trasplante medial y lateral del menisco.

## **Andamios Meniscales actualmente para uso clínico**

Existen dos andamios artificiales meniscales disponibles para uso clínico en la actualidad.

Uno es un andamio biológico, el implante de menisco de colágeno (CMI® por sus siglas en inglés, de la empresa ReGen Biologics, con sede en Franklin Lakes, NJ, EE.UU.). El otro es un andamio sintético (Actifit®, de la empresa Orteq Limited, con sede en Londres, Reino Unido), que está hecho de poliuretano y policaprolactona. Actualmente es el más utilizado en México.

La indicación para ambos andamios es *el tratamiento de los defectos meniscales parciales dolorosos e irreparables en el menisco medial o lateral*, ya que ambos implantes requieren un borde vascularizado periférico intacto y unos cuernos para fijación. Ambos implantes son biodegradables y facilitan la regeneración del tejido proporcionando un tamaño de poro apropiado para infiltrar células huésped derivadas de tejido sinovial para soportar la formación de nuevo tejido meniscal.

El implante de menisco de colágeno (CMI) es un andamio que está compuesto de colágeno tipo I y glicosaminoglicanos (GAG), incluyendo condroitina y ácido hialurónico. Se reticula químicamente con formaldehído y se esteriliza usando radiación gamma. Los estudios en animales demuestran que el crecimiento de tejido comienza superficialmente y el proceso de maduración progresa hacia las capas más profundas, con infiltración fibrovascular activa de la sinovia. Biopsias de pacientes de los estudios clínicos han demostrado el crecimiento interno capilar y la sustitución progresiva del CMI con el colágeno inmaduro, lo que demuestra que el CMI es un andamio de menisco con la capacidad de remodelación dentro de sí mismo. A 5 años de seguimiento, Steadman y Rodkey mostraron fibrocartilago y organizados matriz extracelular en todos los pacientes que biopsiados sin evidencia de reacción inmune, inflamación o la infección<sup>24, 25</sup>.

En cuanto al resultado clínico, los estudios clínicos han mostrado una mejoría significativa en el dolor y la función sin desarrollo o la progresión de la enfermedad degenerativa de la rodilla en la mayoría de los pacientes, a pesar de la contracción del implante a un seguimiento mínimo de 10 años<sup>26, 27</sup>.

Actifit® es un andamio acelular hecho de poliuretano y policaprolactona polimérico de degradación lenta. El crecimiento del tejido se investigó primero clínicamente a los 3 meses usando doble tomografía computada contrastada la cual confirmó crecimiento de tejido<sup>27</sup>. Las muestras de biopsia tomadas a 1 año demostraron un patrón de organización de tejidos de tres capas basado en la presencia o ausencia de vasos, características de la MEC y estructura celular en el 81% de los pacientes. El tejido era viable sin evidencia de una reacción inmune y se parecía al menisco nativo. Otro estudio informó sobre 52 pacientes con defectos de menisco irreparables más de 2 años. Sus resultados confirmaron una mejoría clínica y estadísticamente significativa en todos los sistemas de puntuación clínica. Sin embargo, el estudio realizado por Spencer et al. realizado en 2012 mostró que, a pesar del buen resultado clínico, las características de

la señal de MRI del tejido regenerado en el andamio no se parecen a fibrocartilago meniscal normal. Aunque se requiere un seguimiento continuo para confirmar si la tecnología de reemplazo meniscal puede mejorar el resultado a largo plazo, los resultados iniciales son prometedores <sup>28</sup>.

Además, en Europa e Israel se está llevando a cabo un estudio prospectivo, multicéntrico, abierto y no randomizado que evalúa el tratamiento de la deficiencia del menisco medial con el implante de menisco NUsurface. Este es un dispositivo de polietileno de alto peso molecular (UHMWPE) de flotación libre reforzado con policarbonato-uretano, que es similar a un menisco discoidal morfológicamente y requiere un borde periférico intacto para su inserción. Este material es permanente, sin degradación apreciable de los tejidos o capacidad de infiltración celular. Se investigó en la configuración preclínica utilizando un modelo de oveja y se encontró que algunos efectos condroprotectores .



### Andamios Meniscales impresos en 3D

Las futuras estrategias de menisco de ingeniería tisular deberían centrarse en la construcción de una unidad funcional completa para mantener la homeostasis de la articulación de la rodilla. La construcción de un menisco biomecánicamente inferior impide la función adecuada de la articulación de la rodilla. La impresión tridimensional podría beneficiar el desarrollo de andamios meniscales ideales con estructura biomimética y un microambiente beneficioso para el crecimiento celular. Grogan et al. construyeron un andamio meniscal impreso en 3D basado en una gelatina de metacrilato (GelMa) utilizando estereolitografía de proyección que imitaba alineación de colágeno nativo. Los autores eligieron las células meniscales de la zona avascular humana para sembrar en los andamios durante 2 semanas con un cultivo condrogénico y luego implantaron los andamios en meniscos humanos defectuosos en el modelo ex vivo <sup>30</sup>.

## **Andamios impresos en 3D de $\epsilon$ -policaprolactona con liberación de proteínas**

Los modelos de elementos finitos han demostrado que los módulos circunferenciales y axiales / radiales son determinantes importantes de la distribución de la presión de contacto por el menisco nativo y, por lo tanto, deben ser simulados en cualquier implante para su reemplazo.

Una ventaja significativa de los andamios sintéticos es la relativa facilidad de manipulación de sus propiedades biomecánicas. Los andamios de  $\epsilon$ -poli caprolactona (PCL) se han mostrado prometedores como una solución de ingeniería de tejidos para el menisco y pueden proporcionar un entorno apropiado para la microarquitectura células meniscales. Estas nanofibras tienen la ventaja de proporcionar inicialmente propiedades biomecánicas para proteger el tejido de menisco de regeneración y para organizar y optimizar la orientación de la deposición tridimensional de la matriz extracelular en la dirección circunferencial al tiempo que facilita la infiltración celular a través de fibras del andamio.

En 2014, Lee & Mao et al. informaron de que andamios impresos en 3D de poli-  $\epsilon$  caprolactona (PCL) cargados con microesferas poliméricas que contenían dos factores de crecimiento, CTGF y TGF $\beta$  3, dirigidos a la regeneración meniscal los cuales poseían propiedades mecánicas adecuadas, además de que inducían la diferenciación fibrocondrocítica de células endógenas para la regeneración del menisco de rodilla en un estudio con ovejas.

El factor de crecimiento del tejido conectivo (CTGF), también conocido como CCN2, es una proteína matricelular de la familia CCN de las proteínas de unión a heparina asociadas a la matriz extracelular. El CTGF tiene papeles importantes en muchos procesos biológicos, incluyendo adhesión celular, migración, proliferación, angiogénesis, desarrollo esquelético y reparación de heridas tisulares, y está implicado críticamente en la enfermedad fibrótica. En cuanto a el menisco, CTGF puede tener un papel crucial en la regulación de la síntesis de colágeno de tipo I<sup>33</sup>.

TGF- $\beta$  tiene varias actividades reguladoras, incluyendo la estimulación de la producción de colágeno y proteoglicanos, el aumento de la unión de las células meniscales en el tejido meniscal reparado, y el fomento de matriz contracción<sup>33</sup>.

Lee et al. también informó de que el tratamiento secuencial de CTGF y TGF  $\beta$ 3 induce la diferenciación fibrocondrocítica de células de medula ósea y de células madre mesenquimales de sinovia humanas. Estas citoquinas indujeron a las células madre del huésped a diferenciarse en células tipo menisco (fibrocondrocitos), y estas células condujeron a nueva formación de tejido dentro del andamio de PCL generando biomimetismo que recuerda a un menisco nativo. Además, también restauraron las propiedades mecánicas no homogéneas en el menisco en un lapso de tiempo de 3 meses<sup>33</sup>.

Basándose en la inspección macroscópica, los andamios sembrados con factores de crecimiento fueron superiores a aquellos sin factor de crecimiento. Histológicamente,

los implantes de meniscos con factores de crecimiento producían nueva matriz extracelular con morfología más organizada, con colágeno y proteoglicanos ricos en tejido de fibrocartilago similar. El cartilago articular en los animales que recibieron implantes sin factores de crecimiento mostró cambios degenerativos más importantes. Una ventaja significativa de esta técnica es la capacidad de imprimir andamios de las plantillas generadas por RMN, pero también que los meniscos de tamaño medio podrían ser impresos y disponibles para las aplicaciones disponibles en el mercado. Actualmente este equipo de trabajo está optimizando el volumen de carga de estas dos citocinas y luego evaluando en tiempos de seguimiento más largos, con el objetivo final de avanzar hacia el uso en el entorno clínico humano<sup>33</sup>.

Basado en estos resultados, la combinación de andamios acelulares impresos en 3D y citoquinas parecen prometedores para la regeneración del menisco en un no tan lejano escenario clínico.

## REFERENCIAS

- 1.- Salata MJ, Gibbs AE, Sekiya JK. A systematic review of clinical outcomes in patients undergoing meniscectomy. *Am J Sports Med.* 2010;38:1907–16
- 2.- Makris EA, Hadidi P, Athanasiou KA. The knee meniscus: structure-function, pathophysiology, current repair techniques, and prospects for regeneration. *Biomaterials.* 2011;32(30):7411–7431.
- 3.- Englund M, Roemer FW, Hayashi D, Crema MD, Guermazi A. Meniscus pathology, osteoarthritis and the treatment controversy. *Nat Rev Rheumatol.* 2012;8(7):412–9.
- 4.- Kawamura S, Lotito K, Rodeo SA. Biomechanics and healing response of the meniscus. *Oper Tech Sports Med.* 2003;11(2):68–76.
- 5.- Peters G, Wirth CJ. The current state of meniscal allograft transplantation and replacement. *Knee.* 2003;10(1):19–31.
- 6.- van der Wal RJ, Thomassen BJ, van Arkel ER. Long-term clinical outcome of open meniscal allograft transplantation. *Am J Sports Med.* 2009;37(11):2134–9.
- 7.- Wang H, Chen T, Gee AO, Hutchinson ID, Stoner K, Warren RF, et al. Altered regional loading patterns on articular cartilage following meniscectomy are not fully restored by autograft meniscal transplantation. *Osteoarthr Cartil.* 2015;23(3):462–8.
- 8.- Samitier G, Alentorn-Geli E, Taylor DC, Rill B, Lock T, Moutzouros V, et al. Meniscal allograft transplantation. Part 1: systematic review of graft biology, graft shrinkage, graft extrusion, graft sizing, and graft fixation. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2015;23(1):310–22.
- 9.- Johnson LL, Feagin JA. Autogenous tendon graft substitution for absent knee joint meniscus: a pilot study. *Arthroscopy.* 2000;16(2):191–6.
- 10.- Cook JL, Fox DB, Malaviya P, Tomlinson JL, Kuroki K, Cook CR, et al. Long-term outcome for large meniscal defects treated with small intestinal submucosa in a dog model. *Am J Sports Med.* 2006;34(1):32–42.
- 11.- Balint E, Gatt CJ, Dunn MG. Design and mechanical evaluation of a novel fiber-reinforced scaffold for meniscus replacement. *J Biomed Mater Res A.* 2012;100(1):195–202.
- 12.- Gunatillake PA, Adhikari R. Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering. *Eur Cell Mater.* 2003;5:1–16; discussion 16.
- 13.- Haut Donahue TL, Hull ML, Rashid MM, Jacobs CR. The sensitivity of tibiofemoral contact pressure to the size and shape of the lateral and medial menisci. *J Orthop Res.* 2004;22:807–14.
- 14.- Holloway JL, Lowman AM, Palmese GR. Mechanical evaluation of poly(vinyl alcohol)-based fibrous composites as biomaterials for meniscal tissue replacement. *Acta Biomater.* 2010;6(12):4716–24.
- 15.- Bulgheroni P, Murena L, Ratti C, Bulgheroni E, Ronga M, Cherubino P. Follow-up of collagen meniscus implant patients: clinical, radiological, and magnetic resonance imaging results at 5 years. *Knee.* 2010;17:224–9.
- 16.- Yamasaki T, Deie M, Shinomiya R, Izuta Y, Yasunaga Y, Yanada S, et al. Meniscal regeneration using tissue engineering with a scaffold derived from a rat meniscus and mesenchymal stromal cells derived from rat bone marrow. *J Biomed Mater Res A.* 2005;75:23–30.

- 17.- Nakagawa Y, Muneta T, Otabe K, Ozeki N, Mizuno M, Udo M, et al. Cartilage derived from bone marrow mesenchymal stem cells expresses Lubricin in vitro and in vivo. *PLoS One*. 2016;11(2):e0148777.
- 18.- Caplan AI, Dennis JE. Mesenchymal stem cells as trophic mediators. *J Cell Biochem*. 2006;98(5):1076–84.
- 19.- Kondo S, Muneta T, Nakagawa Y, Koga H, Watanabe T, Tsuji K, et al. Transplantation of autologous sinovial mesenchymal stem cells promotes meniscus regeneration in aged primates. *J Orthop Res*. 2016.
- 20.- Koga H, Muneta T, Nagase T, Nimura A, Ju YJ, Mochizuki T, et al. Comparison of mesenchymal tissues-derived stem cells for in vivo chondrogenesis: suitable conditions for cell therapy of cartilage defects in rabbit. *Cell Tissue Res*. 2008;333(2):207–15.
- 21.- Spindler KP, Mayes CE, Miller RR, Imro AK, Davidson JM. Regional mitogenic response of the meniscus to platelet-derived growth factor (PDGF-AB). *J Orthop Res*. 1995;13(2):201–7.
- 22.- Fabbriani C, Lucania L, Milano G, Schiavone Panni A, Evangelisti M. Meniscal allografts: cryopreservation vs deep-frozen technique. An experimental study in goats. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 1997; 5(2):124–34.
- 23.- Hutchinson ID, Moran CJ, Potter HG, Warren RF, Rodeo SA. Restoration of the meniscus: form and function. *Am J Sports Med*. 2014;42(4): 987–98.
- 24.- Reguzzoni M, Manelli A, Ronga M, Raspanti M, Grassi FA. Histology and ultrastructure of a tissue-engineered collagen meniscus before and after implantation. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2005;74(2):808–16.
- 25.- Steadman JR, Rodkey WG. Tissue-engineered collagen meniscus implants: 5- to 6-year feasibility study results. *Arthroscopy*. 2005;21(5):515–25.
- 26.- Zaffagnini S, Marcheggiani Muccioli GM, Lopomo N, Bruni D, Giordano G, Ravazzolo G, et al. Prospective long-term outcomes of the medial collagen meniscus implant versus partial medial meniscectomy: a minimum 10-year follow-up study. *Am J Sports Med*. 2011;39(5):977–85.
- 27.- Wang YX, Griffith JF, Ahuja AT. Non-invasive MRI assessment of the articular cartilage in clinical studies and experimental settings. *World J Radiol*. 2010;2(1):44–54.
- 28.- Spencer SJ, Saithna A, Carmont MR, Dhillon MS, Thompson P, Spalding T. Meniscal scaffolds: early experience and review of the literature. *Knee*. 2012;19(6):760–5.
- 29.- Zur G, Linder-Ganz E, Elsner JJ, Shani J, Brenner O, Agar G, et al. Chondroprotective effects of a polycarbonate-urethane meniscal implant: histopathological results in a sheep model. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2011;19(2):255–63.
- 30.- Grogan SP, Chung PH, Soman P, Chen P, Lotz MK, Chen S, et al. Digital micromirror device projection printing system for meniscus tissue engineering. *Acta Biomater*. 2013;9(7):7218–26.
- 31.- Baker BM, Shah RP, Silverstein AM, Esterhai JL, Burdick JA, Mauck RL. Sacrificial nanofibrous composites provide instruction without impediment and enable functional tissue formation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(35):14176–81.
- 32.- Fisher MB, Henning EA, Söegaard N, Esterhai JL, Mauck RL. Organized nanofibrous scaffolds that mimic the macroscopic and microscopic architecture of the knee meniscus. *Acta Biomater*. 2013;9(1):4496–504.
- 33.- Lee CH, Rodeo SA, Fortier LA, Lu C, Erisken C, Mao JJ. Protein-releasing polymeric scaffolds induce fibrochondrocytic differentiation of endogenous cells for knee meniscus regeneration in sheep. *Sci Transl Med*. 2014;6(266):266ra171.

# **METODOLOGIA**

## CAPITULO VI METODOLOGIA

### Introducción

Cuando se utiliza <<menisco>> como una palabra clave de búsqueda en los motores de búsqueda de publicaciones científicas, se observa una tremenda diferencia en la cantidad de obras publicadas entre los dos últimos períodos de diez años: 1996-2006 y 2006-2016. El menisco ha sido el tema de muchos estudios de una amplia gama de áreas de investigación, incluyendo, pero no limitado a biología, biomecánica, ingeniería genética, biotecnología, ingeniería de tejidos y ciertamente estudios clínicos. La mejor comprensión de tejido meniscal ha estado teniendo un impacto en la práctica clínica, ya sea la experimentación preclínica, o métodos de procesamiento de biomateriales. Sin embargo, muchos aspectos aún no han sido profundamente entendidos o revelados. El implante meniscal ideal todavía no se ha desarrollado; sin embargo, que vendrá con características biológicas tales como la celularidad a lo largo de sus características biomecánicas. Es indispensable que un <<neotejido>> cuente con las características biológicas similares a las del menisco nativo sano de nuestros pacientes. El implante ideal debe ser “personalizado, hecho a la medida o paciente-específico” a la función de la rodilla <sup>1</sup>. En este capítulo, se abordará la metodología a seguir en nuestro protocolo de impresión meniscal con sus respectivos fundamentos y los materiales a utilizar para poder lograr el principal objetivo experimental: obtener un implante bioimpreso en 3D de un menisco funcional y personalizados para los pacientes en la práctica clínica.

### Ruta metodológica

Las estrategias regenerativas han alcanzado un punto más allá de la ingeniería tisular tradicional con el objetivo de desarrollar neo- tejido donde se busca lograr la celularidad nativa, la vascularidad y la composición de la matriz extracelular. La promesa última de la ingeniería de tejidos es la regeneración de tejidos mediante el uso de las células, los andamios, y los factores de crecimiento. Las células se derivan preferiblemente del mismo paciente y se expanden in vitro y se bioimprimen o se <<siembran>> directamente en el andamio que es un biomaterial poroso donde las células se pueden unir, proliferar, y diferenciar. Después del cultivo in vitro del andamiaje celular, el andamio se implantaría en el modelo animal y se daría seguimiento a este modelo. Si cumple con las expectativas y se obtiene suficiente evidencia científica para su uso en humanos se daría el salto al uso clínico con paciente si este cumple con las normas de calidad. Se esperaría que el andamio se degradara gradualmente con el tiempo después de la implantación mientras que las células sintetizan la matriz extracelular por lo cual el seguimiento estrecho de los pacientes sería fundamental.

Los principales desafíos se encuentran en la similitud composicional y biomecánica del andamio con respecto a un menisco real. Por lo tanto, el tamaño del andamio y la forma son de importancia crítica. En consecuencia, existe la necesidad de ser un implante personalizado para cada paciente. En lugar de los métodos de fabricación tradicionales

de formación de andamios, se utilizarían los métodos de prototipado rápido (impresión 3D) los cuales son superiores para la producción de un andamio que satisface las necesidades anatómicas y biofuncionales.

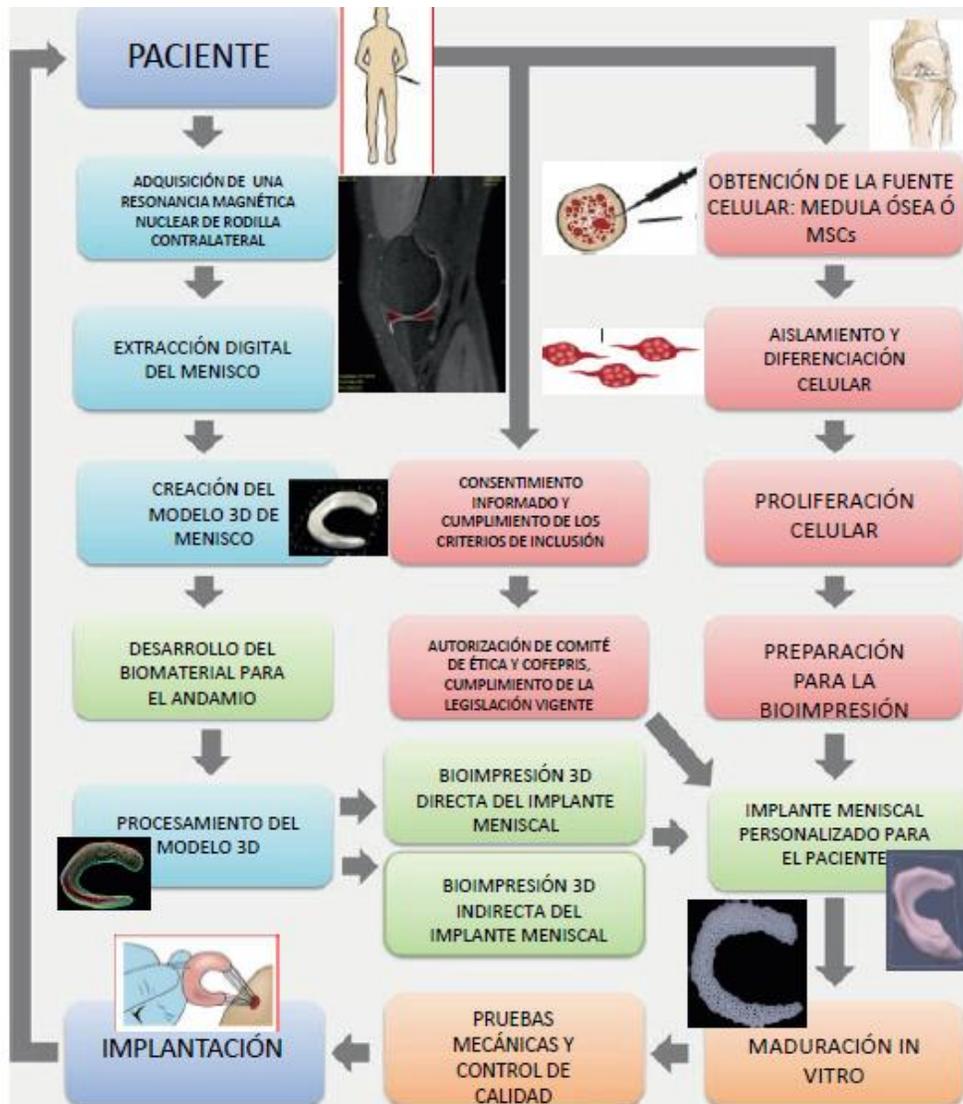
Toda impresión según Murphy s. & Atala A. et al.<sup>2</sup> tiene 6 pasos esenciales:

- 1.- Obtención de la imagen del paciente
- 2.- Procesamiento de la imagen: que significa la adecuada manipulación computacional de la imagen de un elemento específico como el menisco y aproximarla lo más posible a la anatomía del paciente mediante software especializado.
- 3.- Selección del biomaterial del andamio: que puede ser un polímero sintético
- 4.- Selección de la fuente celular: proveniente del paciente previamente diferenciado en células meniscales y fibrocondrocitos
- 5.- El proceso propio de bioimpresión: el cual permite la conjunción de los 3 elementos anteriores
- 6.- Aplicación: que puede ser la maduración, las pruebas in vitro ó la implantación del andamio

En el Cuadro 1 se muestra una ilustración de la hoja de ruta de la estrategia de desarrollo de implantes meniscales paso a paso específicos del paciente para la regeneración del menisco. Implica la fabricación del andamio específico del paciente que podría combinarse con las propias células del paciente que serían productos biológicos derivados de la médula ósea o la sinovia del mismo paciente. Debe hacerse hincapié en que el paciente específico no significa necesariamente sólo que el armazón tiene tamaño específico y forma del menisco del paciente, sino también puede incluir la incorporación de células autólogas ya sea como meniscocitos o células madre que se diferenciarían en estos.

De manera muy general se puede describir que en el estudio se utilizaron doce conejos blancos de raza Nueva Zelanda esqueléticamente maduros, machos, con un peso aproximado de 3,0 kg criados en bioterio para experimentos con animales. Estos 12 conejos se sometieron a la colocación de 1 implante (andamio) de menisco medial de rodilla derecha obtenido mediante un estudio de RMN de una rodilla derecha humana sana de 3 Teslas con cortes a 0.5 mm en todos los planos, realizando una reconstrucción volumétrica con un software de ingeniería reversa de uso comercial (Mimics® versión 20.1; Materialise NV.) y reducidos a un tamaño estándar. Estos implantes fueron impresos en una bioimpresora tipo REGEMAT 3D V1.0 propiedad del Instituto Nacional de Rehabilitación, con un poro de 300 nm con policaprolactona -PLC (es un poliéster alifático biodegradable con un bajo punto de fusión de alrededor de 60°C, biocompatible que en múltiples estudios, como se explicó en el capítulo previo, ha mostrado ser el más idóneo como biomaterial mecánicamente resistente). Estos andamios fueron sembrados con células mesenquimales derivadas de médula ósea humana (por lo menos 8 millones de UFC) por 3 semanas en biorreactor estático con medio basal de DMEM hasta que bajo observación microscópica tengan adecuada fijación y crecimiento en el andamio. La colocación del implante se realizó con anestesia general, mediante artrotomía medial de rodilla de los conejos con técnica de abordaje trivectorial modificada y cierre por planos con materiales de sutura

biodegradables (Vicryl) y sintéticos para la piel (Nylon). Permanecieron en vigilancia estrecha con cuidados postoperatorios y movilidad libre a tolerancia durante 6 semanas. Al concluir las 6 semanas se procedió a realizar eutanasia de los sujetos y extracción del implante, con valoración visual directa del andamio, seguido de una evaluación histológica para valorar el crecimiento de celular del implante. Se realizaron pruebas de observación microscópica del implante mediante microscopía inmunohistoquímica para valorar la capacidad de síntesis de Colágena tipo I y tipo II propias del tejido meniscal



Cuadro 1. Metodología básica para la creación de un andamio bioimpreso en 3d a partir de una resonancia magnética de un paciente para hacer personalizado el implante.

## **Obtención de la fuente celular**

Las células madre mesenquimales se obtuvieron a partir de médula ósea, de un paciente programado para una artroplastia total de cadera en nuestro instituto la cual se encontraba preservada en nuestro banco de tejidos. La caracterización se realizó por citometría de flujo buscando aquellos meramente positivos para los marcadores de superficie CD90 +, CD73 + y CD105 +, luego se sembraron en monocapa y se cultivaron durante 21 días en medio de Eagle- Dulbecco, enriquecido con 20% de suero humano, con la adición de antibióticos / antimicóticos al 1%. Los cultivos se mantuvieron en una incubadora a 37 °C con un 5% de CO<sub>2</sub>, hasta alcanzar el 90% de confluencia. Usamos Tripsina-Gibco (0.25%) para separar las células del matraz de cultivo y posteriormente poder ser sembradas en el andamio meniscal bioimpreso.

## **Diseño de andamio meniscal**

Elegimos diseñar un andamio de menisco lo más anatómicamente posible. La creación del modelo 3D de un menisco de un paciente a partir de una imagen médica tienen varios pasos que fueron descritos en 2016 por Cengiz y colaboradores <sup>2</sup>. Y en resumen se realizó de la siguiente manera:

**Adquisición de resonancia magnética:** Obtuvimos las imágenes a través de un estudio de resonancia magnética de una rodilla derecha humana sana de un paciente, con un resonador de 3 Tesla con cortes a 0,5 mm en todos los planos, utilizando una secuencia de eco de espín en T2. Se obtuvo un conjunto de datos de Imagenología Digital y Comunicación en Medicina (DICOM) con una alta resolución espacial, y el plano de adquisición fue sagital. La adquisición debe tener una secuencia isotrópica 3D proporcionando una alta resolución espacial de un archivo DICOM. La secuencia isotrópica significa que las imágenes volumétricas tienen la misma resolución en todas las dimensiones. Esta adquisición de RM tardará más que los de rutina. Esto trae dos desafíos en la sala de resonancia magnética: el aumento de los costos y mantener al paciente quieto durante toda la adquisición, ya que cada vez que el paciente no está quieto, la adquisición debe repetirse. Los detalles técnicos deben estar bien comunicados entre el técnico de RM y el ingeniero de tejidos que realizará la extracción del menisco y la fabricación del andamio. El reto en este paso es que el modelo 3D extraído proviene directamente de la RM del paciente. Por lo tanto, si la RM del paciente es de una fecha en la que el paciente necesita un implante de menisco, probablemente el modelo 3D obtenido del menisco no será el modelo del menisco sano. Si hay algún cambio en los tejidos osteocondrales de la rodilla, probablemente se perderá el tamaño y la forma del menisco sano original. Por esta razón se propone en este protocolo la adquisición de la RMN de la rodilla contralateral dado que en la literatura se han reportado simetría en los meniscos contralaterales a través de resonancia magnética.<sup>3,4</sup>

**Extracción digital de la imagen del menisco:** La extracción digital significa la segmentación del tejido meniscal en las imágenes DICOM de la rodilla de la RM. Existen varias herramientas para la segmentación; en nuestro estudio utilizamos un software de ingeniería inversa para uso comercial (Mimics® versión 20.1, Materialise NV).

**Creación del modelo de menisco en 3D:** el modelo tridimensional reconstruido de menisco se obtuvo a partir de imágenes segmentadas utilizando la representación de la superficie y utilizando el algoritmo de cubos de marcha.

**Post-procesamiento:** los modelos de tejido 3D extraídos de imágenes médicas son, de hecho, una imagen no procesada que permanece como el tejido original en términos de forma y tamaño. Sin embargo, el modelo de menisco 3D extraído requería un “retoque”, es decir, alisar los bordes y cerrar los orificios secundarios para evitar errores en la producción posterior del andamio. Para esto, usamos el software Rhinoceros® V. 5.0 en nuestro modelo. Finalmente, el modelo 3D se convirtió en un formato de archivo para estereolitografía (\*.STL), que es el formato estándar para la mayoría de las impresoras 3D (Figura 1).

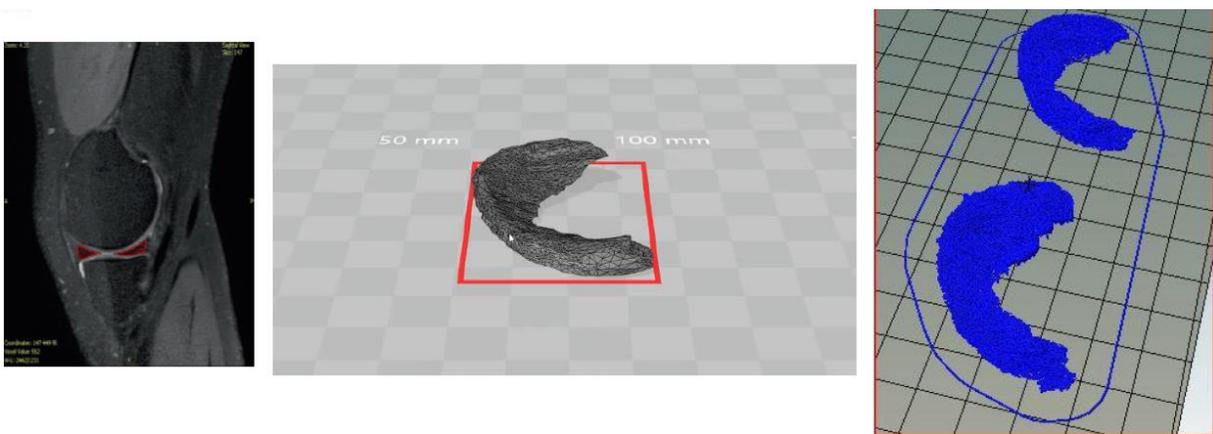


Figura 1. Modelo meniscal obtenido a partir del estudio de resonancia magnética nuclear de un paciente, a partir del software de ingeniería reversa Mimics® versión 20.1, Materialise NV sobre el cual se basaron las posteriores pruebas de bioimpresión con policaprolactona.

### **Desarrollo y elección del biomaterial.**

El proceso completo de desarrollo de biomateriales para un andamio de menisco es una gran cantidad de trabajo que lleva muchos años, por lo que la selección de biomaterial en el proceso global de desarrollo de implantes es de gran importancia. Seleccionamos el material conocido como policaprolactona (que es un poliéster alifático biodegradable con un bajo punto de fusión de alrededor de 60°C, biocompatible que en múltiples estudios ha mostrado ser el más idóneo como biomaterial mecánicamente resistente) de acuerdo con informes previos de adhesión celular adecuada e histogénesis utilizando el mismo material reportada en estudios previos de diversos autores.

### **Fabricación-alineación y estratificación del andamio.**

Este paso es acerca de la alineación virtual del modelo. Este paso permite prevenir errores a la hora de imprimir, consiste en generar las múltiples capas del modelo y

verificar su congruencia. La superposición de un objeto define el número total de capas a fabricar. Sin embargo, de hecho, la capacidad de impresión de la bio material utilizado en combinación con los parámetros de impresión especificados proporciona el espesor de capa. Nosotros realizamos este paso mediante el software REGEMAT3D Designer ®. Se obtuvieron los siguientes parámetros:

Estadísticas de impresión	
Tiempo estimado de impresión	7 m 14 seg
Numero de capas	28
Total de líneas	19428
Filamento necesario	547 mm
Filamento extruible	547 mm

### Arquitectura del andamio

La arquitectura del andamio es la salida acumulada de patrón de la estructura de cada capa. Al ajustar la estructura de cada capa, se puede obtener una amplia gama de arquitecturas. Esto puede ser muy útil porque, de hecho, los meniscos no son uniformes en términos de celularidad, la vascularización, y la biomecánica. Además, si se puede estudiar bien, puede ser posible optimizar la arquitectura para que encaje en la condición del paciente. De esta manera, las características mecánicas del andamio pueden ajustarse mediante el control del tamaño de la red de poros y la arquitectura.

### Parámetros de fabricación del andamio

Basada en el método seleccionado de impresión, hay varios parámetros que deben ser considerados. Para una impresión 3D basada en extrusión, la presión aplicada, la velocidad de impresión y el tipo, forma y longitud de la aguja tienen efectos sobre el espesor de la capa y el éxito de la impresión, y todos estos parámetros deben ser estrictamente específicos para el biomaterial utilizado. Antes de impresión del andamio real, todos los parámetros deben ser optimizados. Dado el tamaño de los conejos se decidió disminuir el tamaño original a una escala al 50%.

Propiedad	Valor
Punto de ajuste de temperatura del material	110 °C
Punto de ajuste de temperatura de la plataforma	20 °C
Presión de aire de extrusión	6 bar
Velocidad de la impresora (extrusión de fibra)	1.4 mm/s
Calibre de aguja	24 Ga
Longitud de la cánula de la aguja	3 mm

## Pruebas de impresión basados en el modelo tridimensional de menisco

Las pruebas fueron llevadas a cabo con el biomaterial elegido con la bioimpresora tipo REGEMAT 3D V1.0 propiedad del Instituto Nacional de Rehabilitación. Se realizó una alineación y estratificación del andamio; este paso trata de la alineación virtual del modelo. Este paso permite evitar errores al imprimir, consiste en generar las múltiples capas del modelo y verificar su congruencia. La superposición de un objeto define el número total de capas que se fabricarán. Sin embargo, de hecho, la capacidad de impresión del material biológico utilizado en combinación con los parámetros de impresión especificados proporciona el grosor de la capa. Llevamos a cabo este paso utilizando el software REGEMAT3D Designer ®.



Figura 2. Modelo bioimpreso de policaprolactona basado en el modelo tridimensional tras múltiples pruebas en la corrección de poro y grosor de capa, viable para su esterilización y posterior siembra con células madre mesenquimales.

## Esterilización y siembra de los andamios de policaprolactona

Se imprimieron 20 andamios en policaprolactona los cuales fueron esterilizados mediante la técnica de irradiación ultravioleta (UV) que actualmente es un nuevo enfoque para esterilizar andamios biodegradables. A menudo se utiliza para esterilizar superficies de material y andamios biodegradables transparentes. La irradiación UV da como resultado la excitación de los electrones y la acumulación de fotoproductos. Esto causa daños a las moléculas de ADN y evita la replicación del ADN, lo que conduce a

la inactivación de microorganismos. Posterior al proceso de esterilización se llevó a cabo la siembra celular de la masa crítica descrita con anterioridad.

Las células madre mesenquimales se obtuvieron a partir de médula ósea y fueron previamente verificadas por citometría de flujo se sembraron directamente en los andamios esteriles y fueron depositados en cajas de Petrie como biorreactores estáticos y cubiertos completamente en medio de Eagle- Dulbecco, enriquecido con 20% de suero humano, con la adición de antibióticos / antimicóticos al 1%. Los cultivos se mantuvieron en una incubadora a 37 °C con un 5% de CO<sub>2</sub> por 14 días para asegurar la correcta adhesión de las mismas al andamio.

Para evitar la precipitación celular al fondo del recipiente por efecto de gravedad se decidió utilizar el sistema adhesivo de fibrina (figura 3).

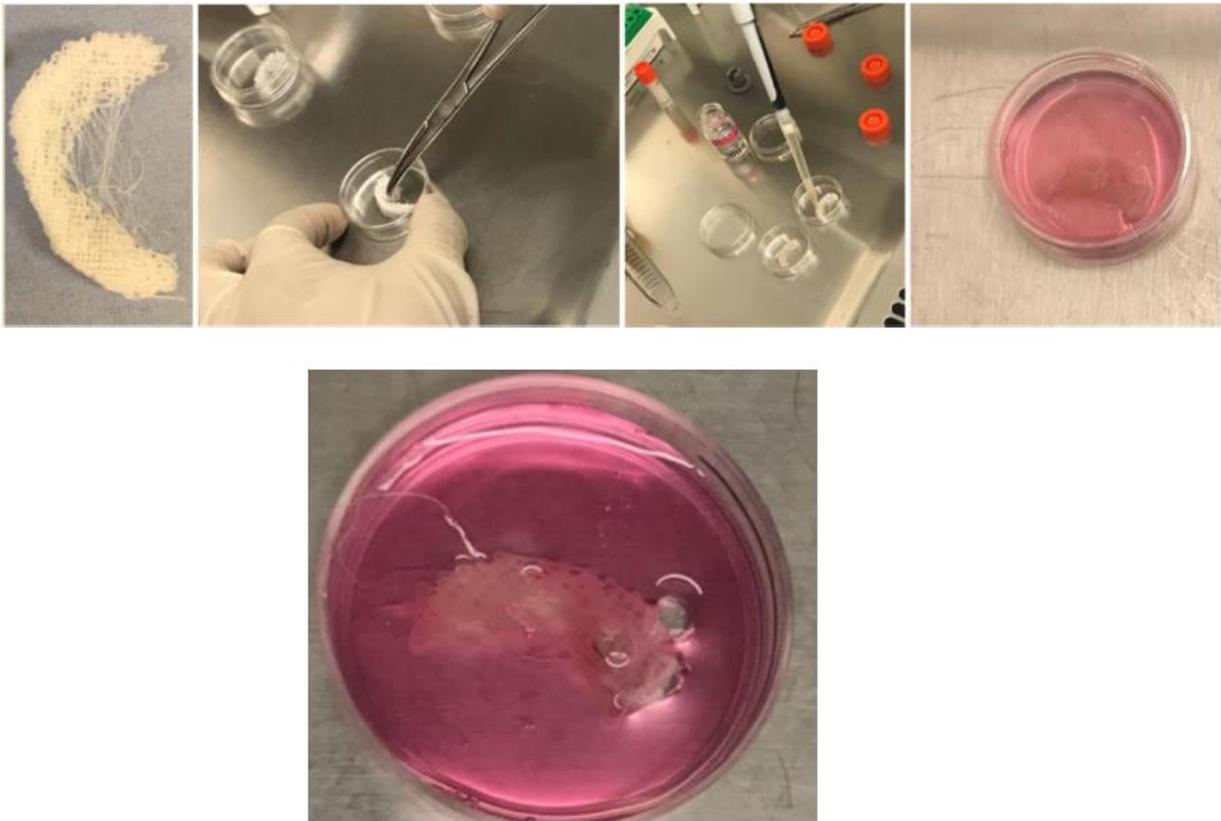


Figura 3. Procedimiento de selección, colocación y siembra del andamio de  $\epsilon$ -policaprolactona para posteriormente ser incubado en un reactor estático, previo a su implantación en los animales de estudio.

### **Comprobación mediante estudios histológicos la correcta adhesión y viabilidad celular en el andamio**

Posterior al periodo de incubación se cortó un fragmento del andamio para la evaluación histológica de viabilidad celular. Se usó calceína (colorante permeable a la membrana celular) para determinar la viabilidad celular y el homodímero de etidio para determinar

células no viables (muertas). Además, se utilizó hematoxilina-eosina-estatina para visualizar los núcleos de las células madre mesenquimales (Figura 4).

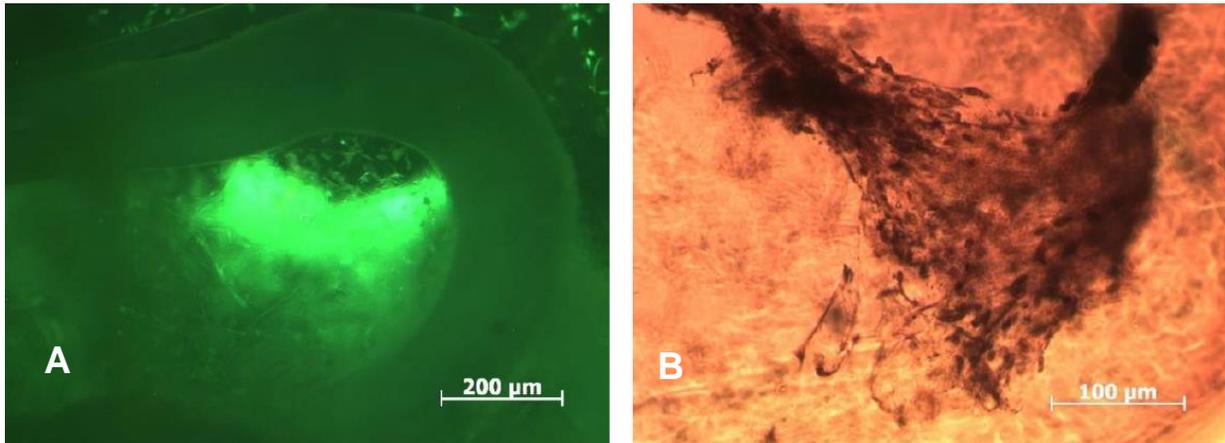


Figura 4. Pruebas de viabilidad celular en los andamios previo a su implantación en los animales de estudio. A) Tinción de Calceína: en verde fosforescente se observa la viabilidad de células mesenquimales adheridas al andamio de policaprolactona en el nicho de un poro. B) Tinción de Hematoxilina-Eosina- Estatina: En café oscuro se observan los núcleos de células troncales mesenquimales viables formando nichos dentro del andamio.

### **Implantación de los andamios en el modelo animal**

Se realizó la implantación subdérmica de los andamios en 12 conejos blancos, machos, de bioterio de raza Nueva Zelanda, todos con un peso aproximado de 3 kg y con edad no menor a 8 meses para asegurar madurez esquelética propia de la raza.

La implantación se realizó bajo anestesia general con apoyo de la MVZ. Brenda Olivos Diaz con uso de técnica estéril, con previa tricotomía de la región a abordar (ambas rodillas), se realizó limpieza aséptica y antiséptica de la región a abordar con Iodopovidona y clorhexidina. Se colocaron campos estériles de forma adecuada para dejar un sitio de trabajo para la realización del procedimiento, se realizaron incisiones de aproximadamente 3-4 cm y se implantaron de forma subdérmica los andamios con viabilidad celular (Figura 5).

Se realizó cierre por planos con suturas de vicryl y nylon cubriendo las heridas por 5 días. En el postoperatorio inmediato y mediato se realizó vigilancia estrecha de los conejos, se les administró antibioticoterapia profiláctica y se mantuvieron en jaulas adecuadas con suficiente comida y líquidos, así como adecuadas condiciones de higiene. En esas condiciones estarán por 6 semanas para poder realizar la extracción del andamio.



Figura 5. Colocación de los andamios dentro de los conejos con la técnica previamente descrita.

### **Extracción de los andamios/ implantes de los conejos**

Posterior a la colocación de los andamios se mantuvieron los conejos bajo vigilancia estrecha, con movilidad limitada a una jaula de 80\*80 cm donde permanecieron con suficiente comida y agua con cuidados de higiene y limpieza frecuente por 6 semanas



Figura 6. Conejo en su jaula para vigilancia postoperatoria y para mantener una movilidad limitada por 6 semanas posterior a la colocación quirúrgica del andamio.

Posterior a un periodo de 6 semanas posteriores a la colocación del tejido implantado en los conejos se procede a realizar eutanasia de los conejos mediante el siguiente procedimiento:

1.- Previa autorización del comité de ética y con base en el reglamento para el cuidado de animales de sujetos de investigación en el laboratorio, se procede a sacar de sus jaulas originales a los conejos y son llevados a el espacio convenientemente adecuado para realizar la eutanasia del sujeto

2.- Se introdujo a cada uno de los conejos dentro de una caja de acrílico con válvula de entrada de gas (CO<sub>2</sub>) la cual estaba limpia y con cierre hermético y válvula de salida por presión.

3.- Se abre la válvula de gas (CO<sub>2</sub>) hasta alcanzar una concentración de dióxido de carbono superior al 75% con respecto a aire corriente, durante este proceso se espera que poco a poco el conejo comience a tener una pérdida de estado de alerta propia de la intoxicación por dicho gas

4.- Una vez alcanzada la concentración deseada de gas se procede a esperar un tiempo que comprende entre 10-15 minutos para asegurar la eutanasia del sujeto, posterior al tiempo transcurrido se verifica la muerte del conejo mediante la utilización de un

estetoscopio, la verificación de pulso carotideo y la ausencia de reflejo oculomotor bilateral

5.- Posterior a confirmar la muerte se extrae al sujeto de la caja de acrílico y se lleva de forma inmediata a quirófano para realizar la extracción de los implantes

*Durante todo el proceso se puso extremado énfasis en evitar el sufrimiento de los animales durante el estudio.*

Una vez en quirófano, con uso de técnica estéril y previa tricotomía de la región previamente abordada se realizó limpieza aséptica y antiséptica con Iodopovidona y clorhexidina. Se colocaron campos estériles de forma adecuada para dejar un sitio de trabajo para la realización del procedimiento, se realizaron incisiones sobre las cicatrices y se disecó por planos hasta llegar a los andamios retirándose de forma gentil para posteriormente ser incluidos en nitrógeno líquido para su transporte de forma adecuada hacia el área de patología y poder ser analizados de forma pertinente (Figura 7).



Figura 7. Conejo en quirófano posterior a la eutanasia programada al finalizar las 6 semanas del procedimiento inicial. El procedimiento se realizó como se describió anteriormente con la precaución de evitar el sufrimiento de los animales durante el proceso.

## REFERENCIAS

1.- Cengiz I, Pitikakis M, Cesario L, Parascandolo P, Vosilla L, Viano G, Oliveira J, Reis R. Building the basis for patient-specific meniscal scaffolds: from human knee MRI to fabrication of 3D printed scaffolds. *Bioprinting*. 2016;1:1–10.

2.- Murphy, S. Atala, A. 3D bioprinting of tissues and organs. *Nature Biotechnology* 32, 773–785 (2014) doi:10.1038/nbt.2958

3.- Yoon, Jung-Ro et al. The Use of Contralateral Knee Magnetic Resonance Imaging to Predict Meniscal Size During Meniscal Allograft Transplantation. *Arthroscopy*, Volume 30, Issue 10, 1287 – 1293

4.- Jung-Ro Yoon, et al. Is Radiographic Measurement of Bony Landmarks Reliable for Lateral Meniscal Sizing? *The American Journal of Sports Medicine* Vol 39, Issue 3, pp. 582 - 589

# **RESULTADOS ANALISIS Y CONCLUSIONES**

## CAPITULO VII

### RESULTADOS, ANALISIS Y CONCLUSIONES

#### Viabilidad Celular

Previo al implante de los andamios se verificó una adecuada viabilidad celular por lo que las imágenes obtenidas a partir de la reacción con Calceina fueron sometidas a un análisis con el software Image Pro ® Versión 10.0 donde se analizó en los campos el porcentaje de células viables a 200 µm. Se procedió a numerar cada célula y su correspondiente emisión de color verde como se muestra en el ejemplo de la figura A.

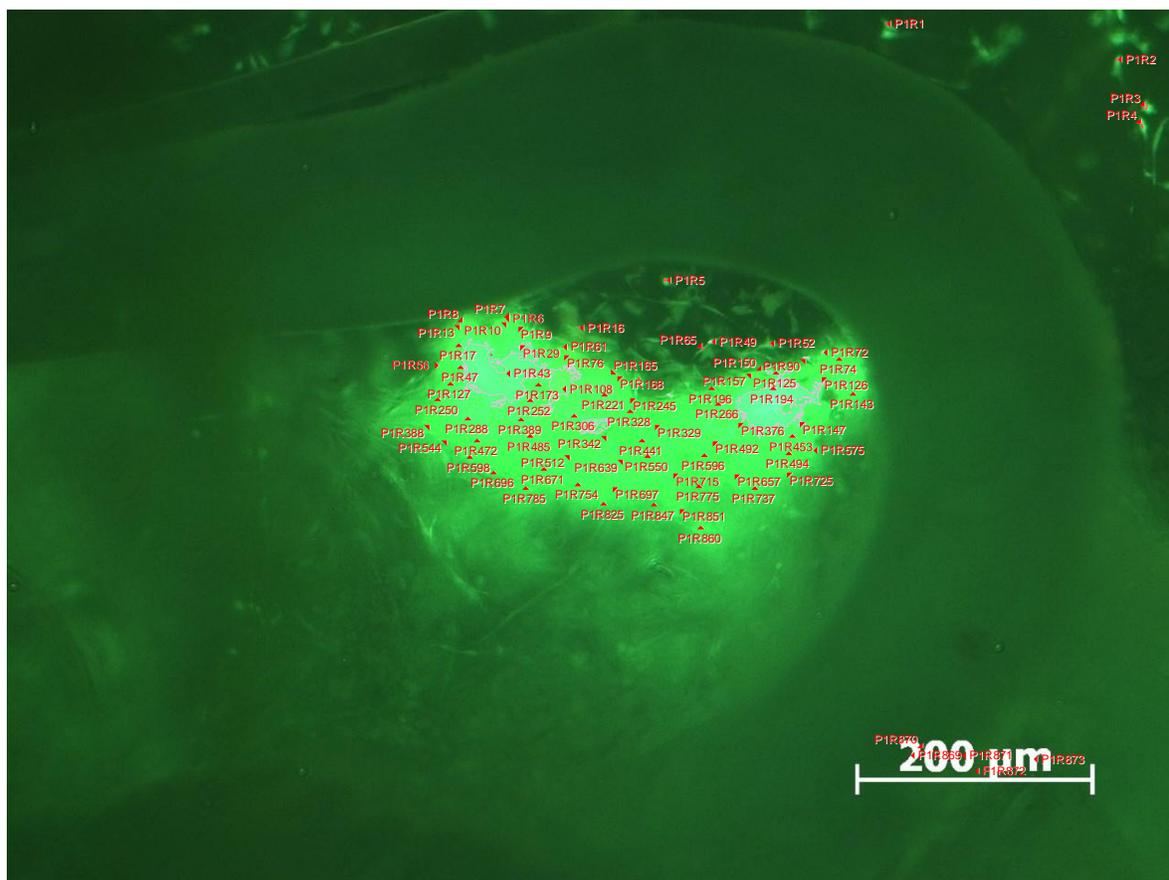


Figura A. Marcaje celular imagenológico realizado con el software ImagePro ® versión 10.0 para posteriormente analizar el porcentaje de viabilidad. Cada célula presenta un marcador color rojo.

Posteriormente se procedió a separar por capas de color primario (Red -Green -Blue) y se distribuyó en un histograma para verificar la distribución de la tonalidad de color Verde y rectificar una adecuada distribución por pixeles para poder determinar el porcentaje de viabilidad (figura B).

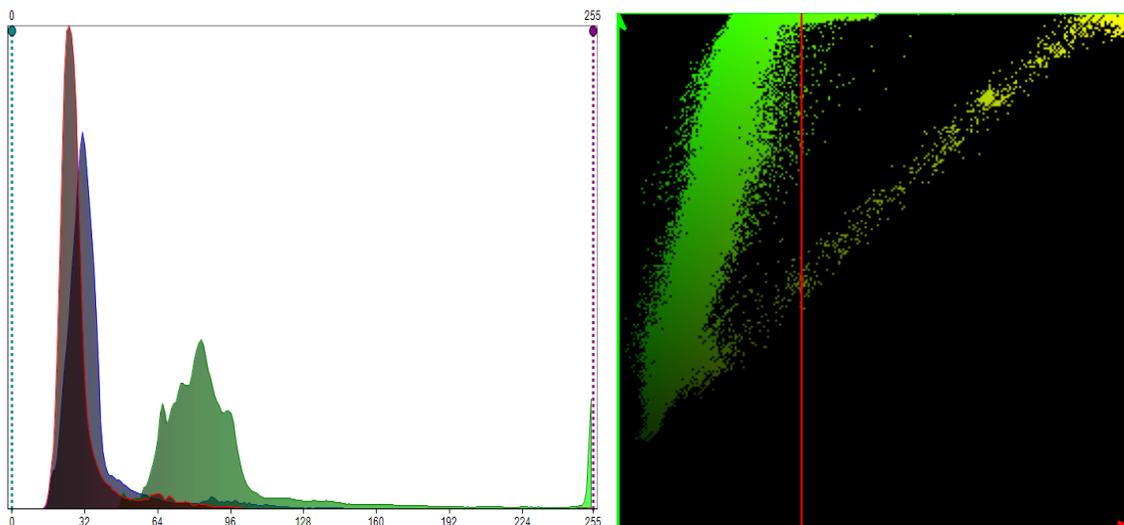


Figura B. Histograma y diagrama de distribución de pixeles de los distintos colores que conforman la imagen para su análisis, cada punto representa un pixel en el diagrama los cuales se distribuyeron entre las diferentes tonalidades del verde de la calceína.

Posteriormente se realizó un análisis de dispersión de color entre los diferentes rangos de tonalidad de color verde para posteriormente calcular el porcentaje de pixeles con este color y finalmente poder calcular de forma cuantitativa y reproducible la viabilidad celular en la muestra, obteniéndose lo siguiente:

Class	Count (MPx)	Percentage (%)	SD (MPx)
Red	0.16	1.83	0.052
<b>Green</b>	<b>8.37</b>	<b>95.88</b>	<b>0.953</b>
Blue	0.2	2.29	0.041
<b>Total</b>	<b>8.57</b>	<b>100.0</b>	-

Obteniéndose un porcentaje de viabilidad en las células analizadas dentro del campo de 95.88% en este ejemplo por lo cual se decide realizar el implante de los andamios con células madre dentro de los conejos por la alta probabilidad de tasa de supervivencia celular y diferenciación esperada en el proceso. Todos los andamios implantados tenían una viabilidad no menor al 80%.

### Valoración Macroscópica

Como se comentó en el capítulo anterior, después de un periodo de vigilancia postoperatoria de 6 semanas del implante de los andamios se realizó posterior a la eutanasia de los sujetos de estudio, con apoyo de la MVZ. Brenda Olivos Diaz, con uso de técnica estéril, incisiones sobre las cicatrices y se disecó por planos hasta llegar a los andamios retirándose de forma gentil para posteriormente ser incluidos en nitrógeno

líquido para su transporte de forma adecuada hacia el área de patología y poder ser analizados de forma pertinente.

Se extrajeron los implantes de forma semilunar, de tamaño que vario de los 46 mm hasta los 52 mm de largo (media de 48 mm) y de 30 a 33 mm de ancho (media de 31 mm) con un grosor de entre 9-10mm.

Los implantes presentaban una consistencia renitente y macroscópicamente se observó un tejido rosado con inclusión casi completa del andamio de é-policaprolactona, con características de superficie parecidas a un tejido fibrocartilaginoso y aparente crecimiento de trama microvascular en la periferia. Todos se encontraban incluidos en una pseudomembrana fibrosa delgada, móvil no adherida a otros planos sin datos de transformación maligna de ningún tipo, con datos de fibrosis cicatricial propia del procedimiento quirúrgico (Figura C).

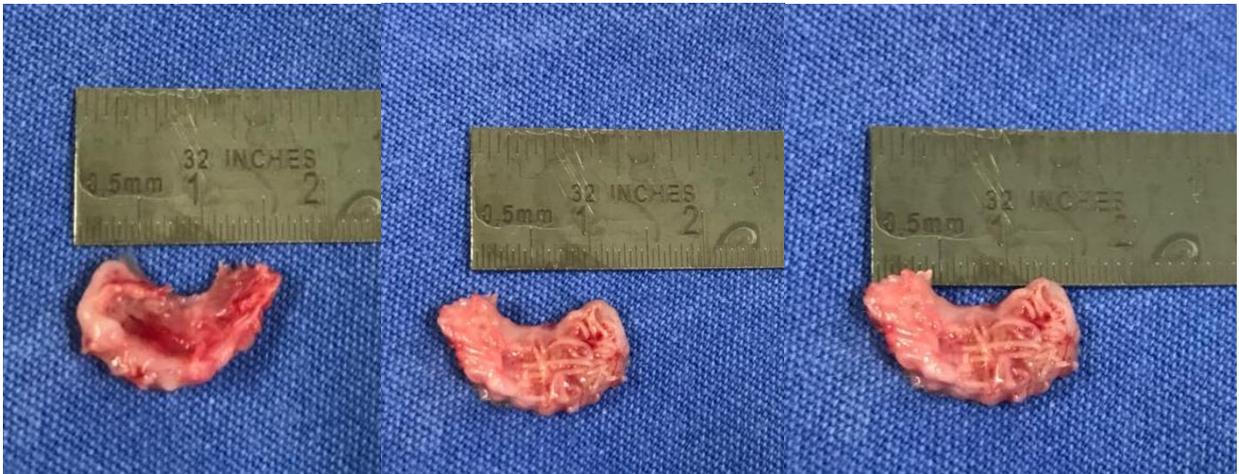


Figura C. Visión macroscópica de los implantes al ser retirados de los conejos, comparados con una regla para su medición.

### **Valoración Microscópica**

A cada uno de los implantes se les realizó un análisis histológico completo, por lo cual se les realizo un proceso histológico convencional (Fijación-Inclusión-Corte-Tinción-Observación) con apoyo de la Dra. Eréndira Estrada Villaseñor, Medica Adscrita al servicio de Patología de nuestro Instituto.

Se realizaron las siguientes tinciones del tejido obtenido:

- **Tinción Hematoxilina- Eosina**

Esta es considerada como la técnica de tinción de uso más frecuente en el estudio de células y tejidos, a través del microscopio óptico. En esta técnica se observan los núcleos celulares de color azul-violeta y el citoplasma o la matriz extracelular de color rosado. Nos permite visualizar adecuadamente la morfología celular. En el caso de los cortes procesados con esta técnica se observa (Figura) un tejido parecido al fibrocartílago

donde las células tienen morfología que asemeja a un condrocito con núcleos celulares basófilos y amplio citoplasma eosinofílico, envueltos en haces de fibras eosinofílicas en forma de huso mal organizadas (aparentemente fibras de colágeno), con una abundante matriz con estas características, se observan conglomerados celulares alrededor de los sitios donde estuvo el andamio que probablemente estaban fijadas al andamio de policaprolactona.

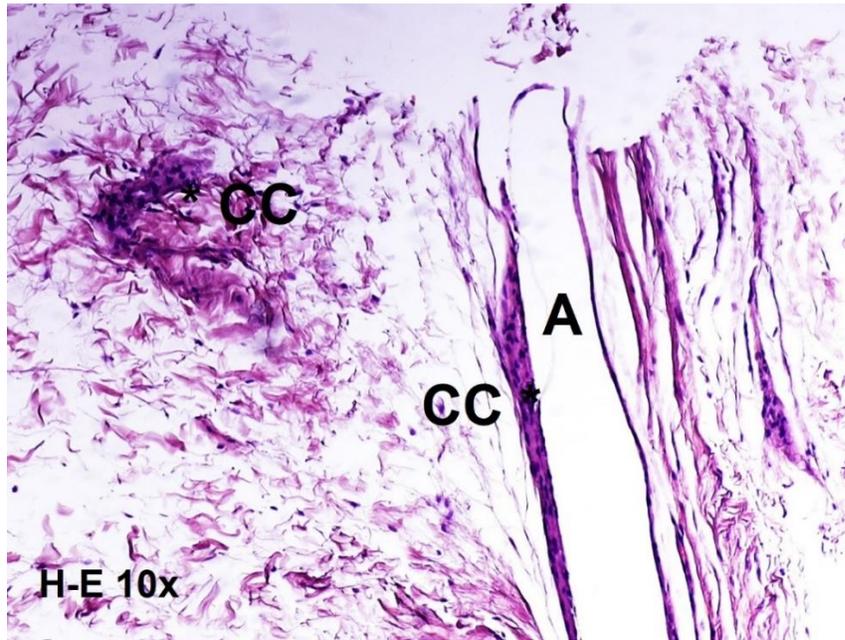


Figura D. Hematoxilina-Eosina 10X. Se observan conglomerados celulares (CC) inmersos en fibras en forma de huso mal organizadas con abundante matriz eosinofílica, uno de estos conglomerados se encuentra adosado a donde se encontraba el andamio de policaprolactona (A) el cual se perdió durante el proceso de técnica histológica por el uso de los solventes durante la fijación.

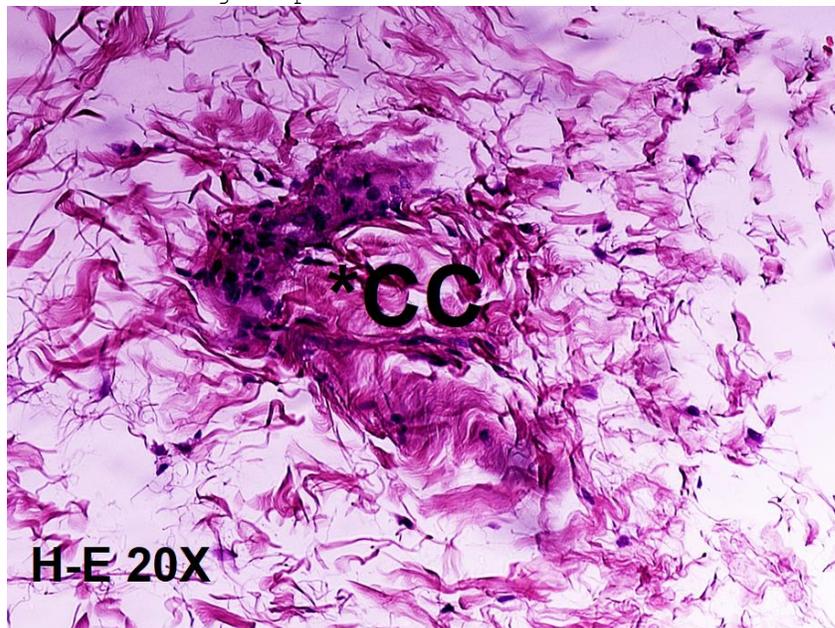


Figura F. Hematoxilina-Eosina 20X. Acercamiento a uno de los conglomerados celulares donde se observan células de núcleo redondo basófilo con citoplasma acidófilo y con características morfológicas semejantes a condrocitos los cuales ocupan unas pequeñas cavidades dentro de la matriz rodeados de una laguna.

- **Tinción de Von Kossa**

La tinción de Von Kossa es una tinción de tipo argéntica en la cual el fosfato de calcio se tiñe de color negro, es los cortes se observa tejido con gran cantidad de matriz extracelular en forma de haces irregulares, los cuales rodean vasos sanguíneos bien delimitados por endotelio en donde se alojan numerosos eritrocitos y al no tener zonas teñidas en negro se descarta el depósito de calcio dentro del andamio.

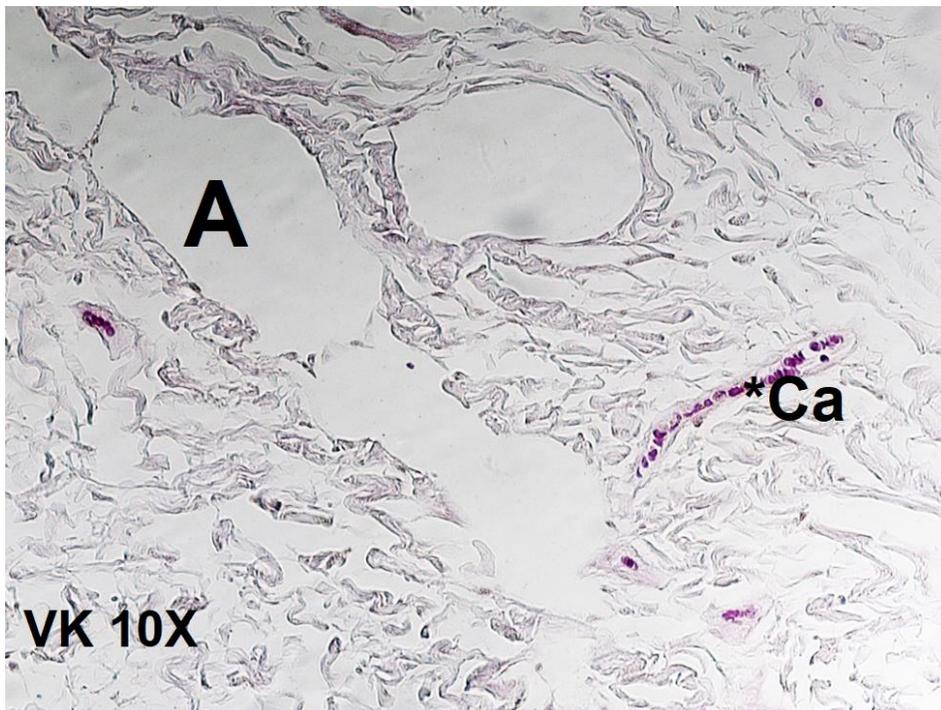


Figura G. Tinción de Von Kossa 10X. No se identifica a lo largo de los campos coloración negra en alguna región, descartándose así la formación de depósitos de calcio dentro del implante. Se observa el sitio donde se alojaba el andamiaje de policaprolactona (A) el cual se perdió durante el proceso de fijación en la técnica histológica. Perpendicular y próximo a este se observa un capilar (\*Ca) el cual conserva la capa íntima y eritrocitos en su interior.

- **Tricómico de Masson**

Esta técnica se utiliza para diferenciar musculo de tejidos con abundante colágeno el cual se observa de color verde azulado. En los cortes histológicos forma una matriz abundante alrededor de células parecidas a condrocitos y además se observan espacios en forma de lagunas y matriz donde se encontraba alojado el esqueleto del andamio impreso con policaprolactona el cual ya no se observa secundario al tratamiento del tejido.

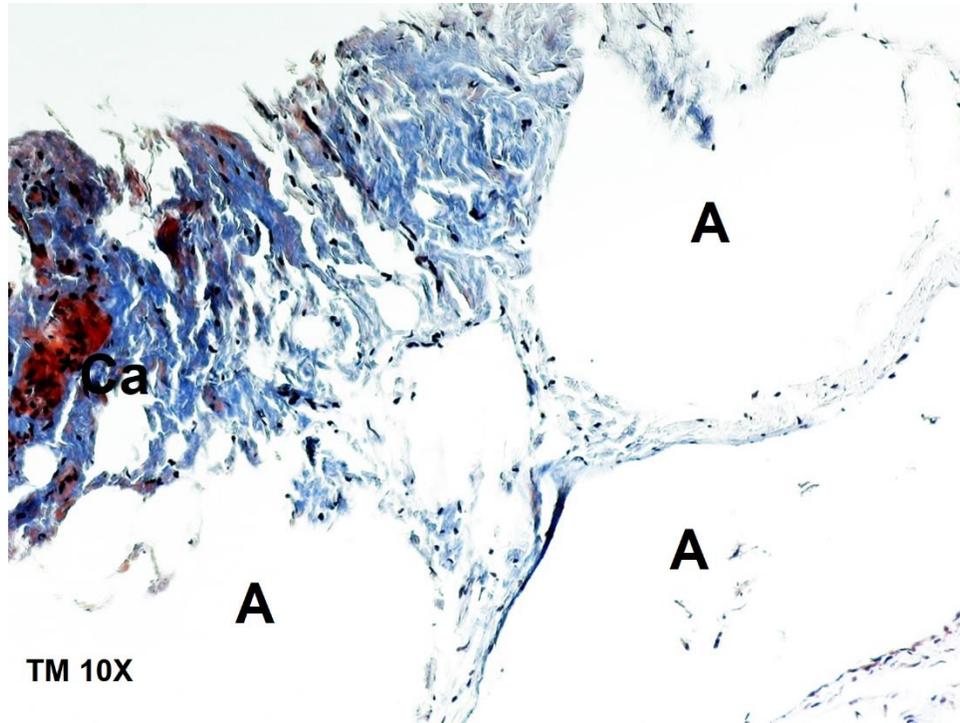


Figura H. Tricrómico de Masson 10X. Obsérvese la abundante matriz extracelular de color azul en forma de haces irregulares alrededor de los sitios donde se encontró el esqueleto del andamio (a)previo a su fijación. Dicha matriz toma el color azul por las altas cantidades de colágeno que la componen semejante a una matriz condroide. Se observa en color rojo un capilar (Ca) atravesando dicha matriz condroide.

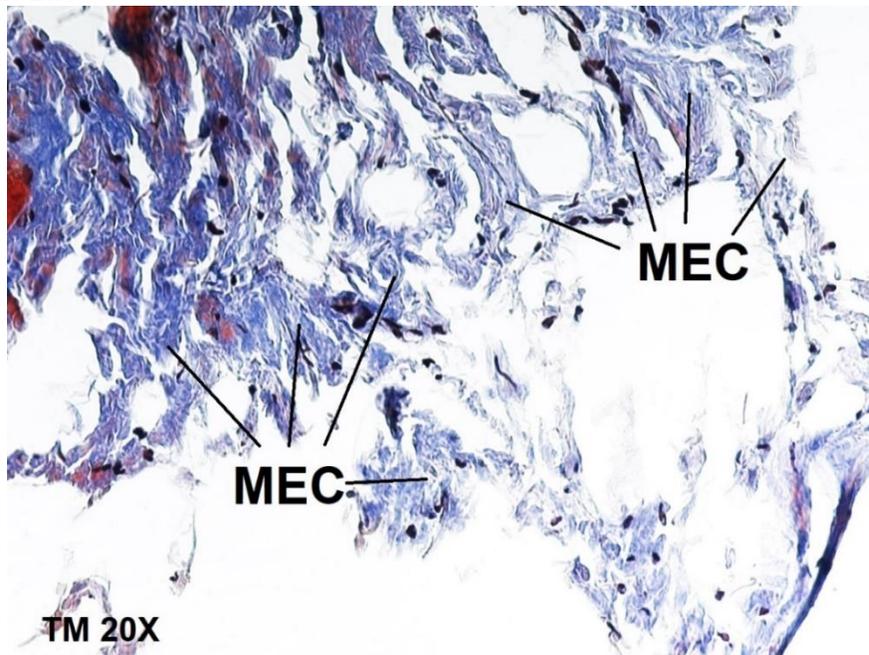


Figura I. Tricrómico de Masson 20X. Acercamiento para visualizar a detalle la gran cantidad de matriz extracelular condroide con abundante cantidad de colágeno

- **Azul Alcían**

Es una tinción formada por cualquier miembro de una familia de colorantes básicos polivalentes, se utiliza para colorear polisacáridos ácidos como glicosaminoglicanos en cartílago y otras estructuras corporales y algunos tipos de mucopolisacáridos.

En la tinción realizada a los cortes del implante se puede visualizar coloración azul débil pero uniforme a lo largo de los haces irregulares descritos en dicho tejido anteriormente que conforman la extensa matriz extracelular, lo cual revela la síntesis de mucopolisacáridos ácidos presumiblemente condroitina y heparán sulfato.

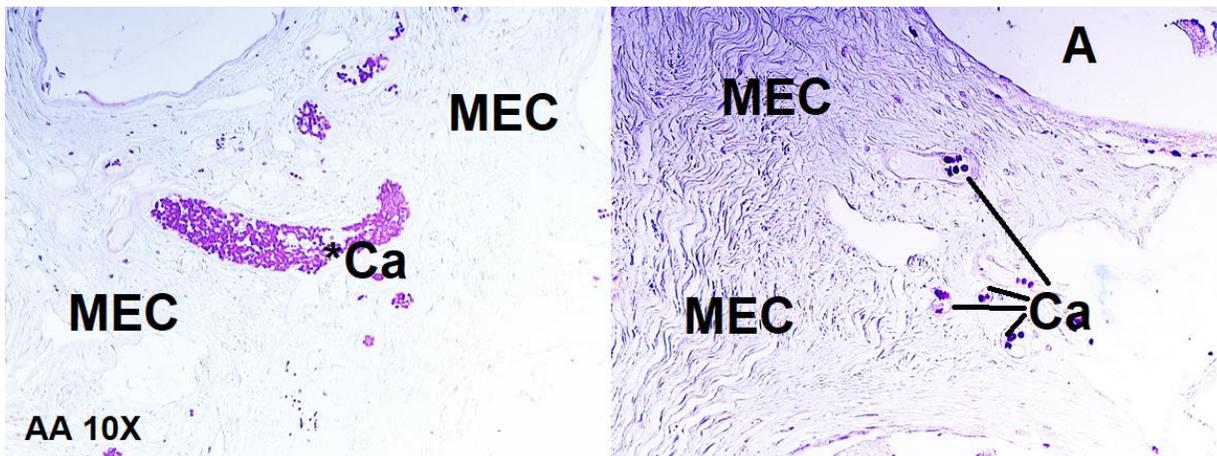


Figura J. Tinción Azul Alcían 10X Nótese la gran cantidad de matriz extracelular (MEC) en un débil color azul por los polisacáridos ácidos que contiene, la cual está siendo atravesada por múltiples capilares (Ca) denotando un gran aporte vascular dentro del implante.

- **Inmunofluorescencia: Proteínas propias de cartílago (Colágeno tipo I y II, Agrecano y SOX-9)**

Como se comentó en el capítulo II de esta tesis, aproximadamente el 90% del colágeno presente en los meniscos es el colágeno tipo I y una importante red de colágeno tipo II también está presente en los meniscos; sin embargo, esta red no es tan extensa como la red híbrida encontrada en el cartílago hialino articular. Por lo tanto, se esperaría una diferencia importante en la expresión de estas 2 proteínas. Por lo cual se realizó inmunofluorescencia para ambas, encontrándose una abundante expresión de Colágeno de tipo I y se observo en menor medida la expresión de colágena tipo II tal cual era esperado para el tejido meniscal (figuras K y L).

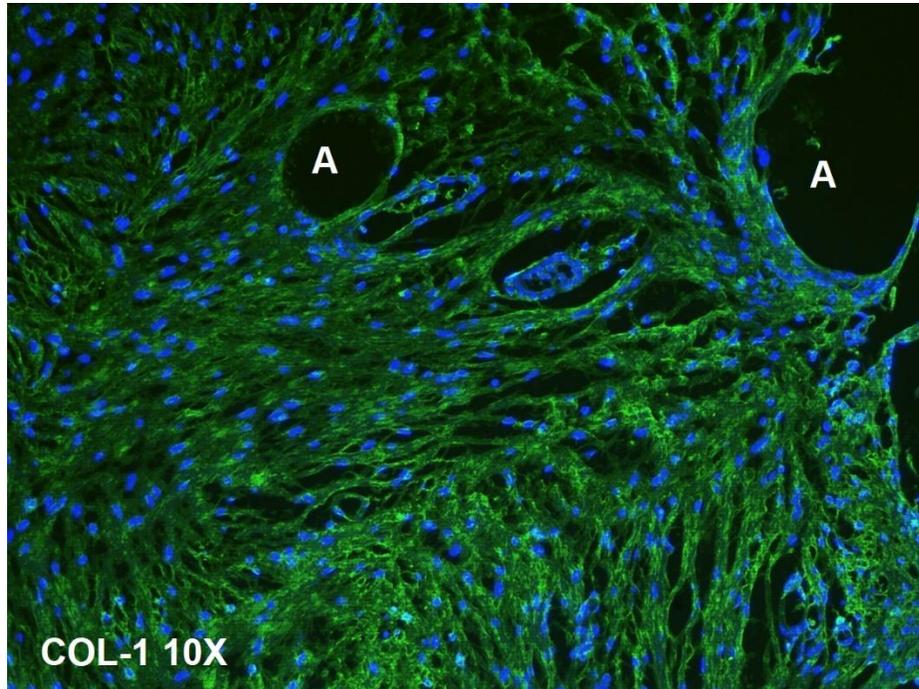


Figura K. Inmunofluorescencia para Colágena tipo I, 10X. Se observa en Azul la inmunofluorescencia contra proteínas tipo histona con el finde delimitar los núcleos celulares. En verde la inmunofluorescencia contra colágena tipo I la cual se expresa de manera abundante en forma de haces irregulares a lo largo de la gran matriz extracelular. También es posible observar los sitios donde se encontraba el andamio (A).

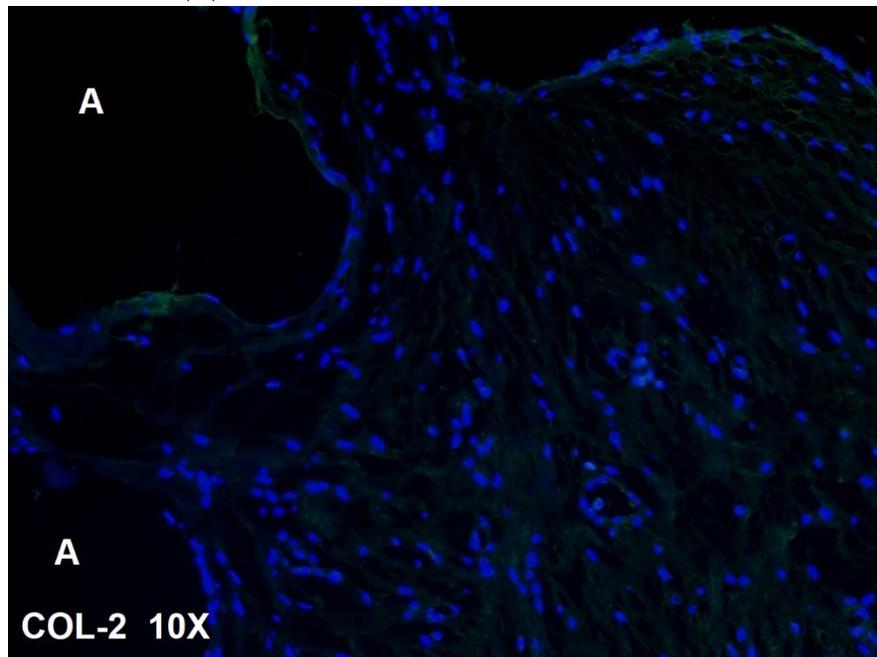


Figura L. Inmunofluorescencia para Colágena tipo II, 10X. A diferencia de lo observado en la figura previa, en el caso de la inmunofluorescencia contra colágena tipo II (verde) esta fue ligeramente en forma de una red a lo largo de toda la matriz extracelular del tejido. Los núcleos celulares se muestran en azul y se observa también el sitio donde se localizaba el andamio de policaprolactona.

El agregano también denominado proteína central proteoglicada cartílago-específica es una proteína que es el principal componente proteoglicano, con carga negativa, de la matriz extracelular del cartílago. Los principales encargados de la secreción de esta proteína son los condrocitos y sus componentes principales son el condroitín sulfato en sus distintas isoformas (principalmente el condroitín-6-sulfato), el queratán sulfato y el dermatán sulfato.

El agregano junto con el colágeno del tipo I es un componente fundamental para la estructura y la función del cartílago de las articulaciones por tal razón se decidió realizar inmunofluorescencia de esta proteína (Figura M).

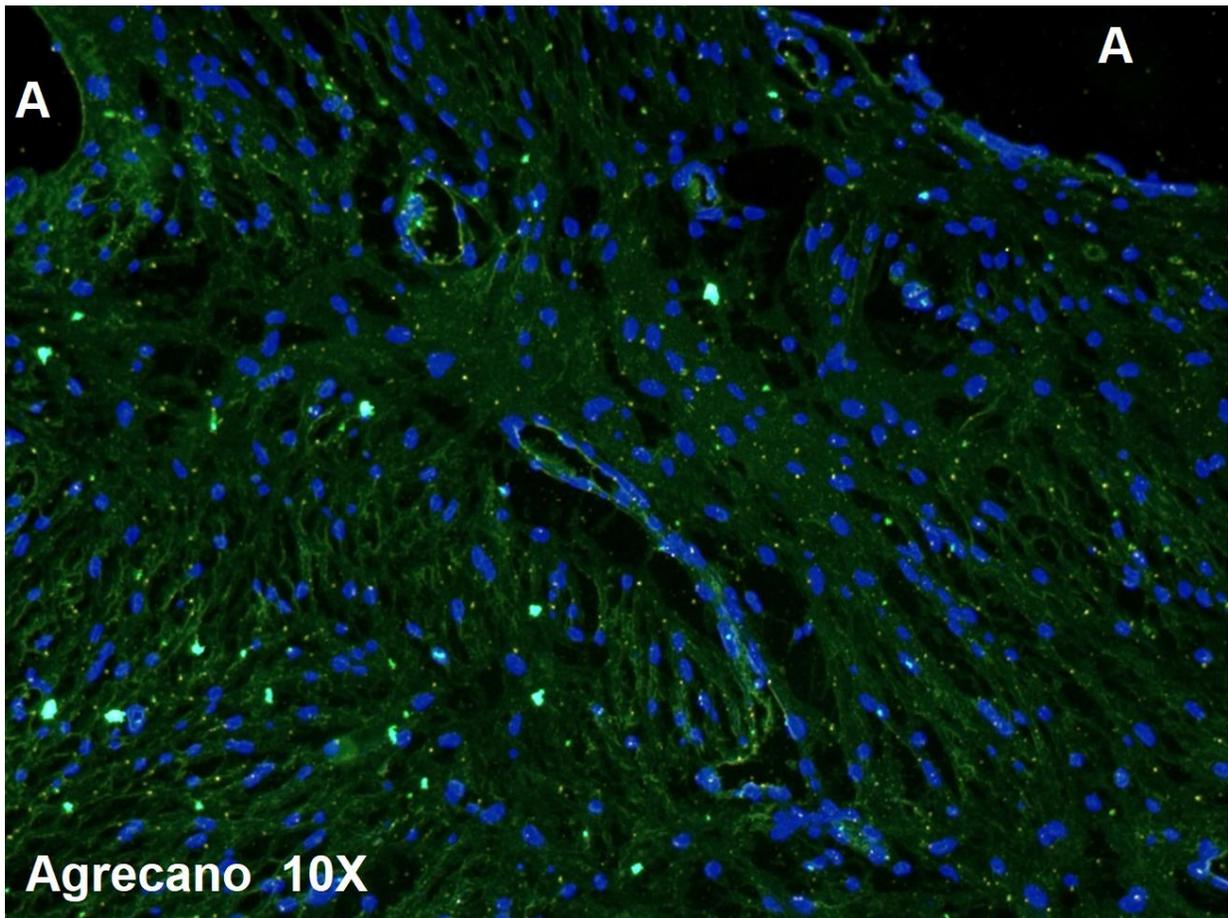


Figura M. Inmunofluorescencia para Agrecano, 10X. Se observa en azul los núcleos celulares. En verde la inmunofluorescencia contra Agrecano el cual se expresa a lo largo de la gran matriz extracelular con menor intensidad que el colágeno tipo I, pero con mayor intensidad que el colágeno tipo II (ver figuras previas) aunque en algunos sitios hay mayor expresión de su síntesis. También es posible observar los sitios donde se encontraba el andamio (A).

Por último, la proteína Sox9 es reconocida como un factor de transcripción que se expresa como condroprogenitor de los condrocitos diferenciados, Se realizó la técnica con ese preciso fin: determinar si existen sitios activos de formación de condrocitos

inducidos por los condrocitos ya diferenciados de forma aledaña en un tipo de señalización paracrina. En nuestro caso se observó una importante expresión en la periferia de los sitios donde se alojaba el andamio (Figura N) dando a entender un crecimiento en sentido centrifugo con respecto al andamio (del andamio hacia afuera) por lo tanto en las regiones lejanas al andamio se podrán observar condrocitos maduros.

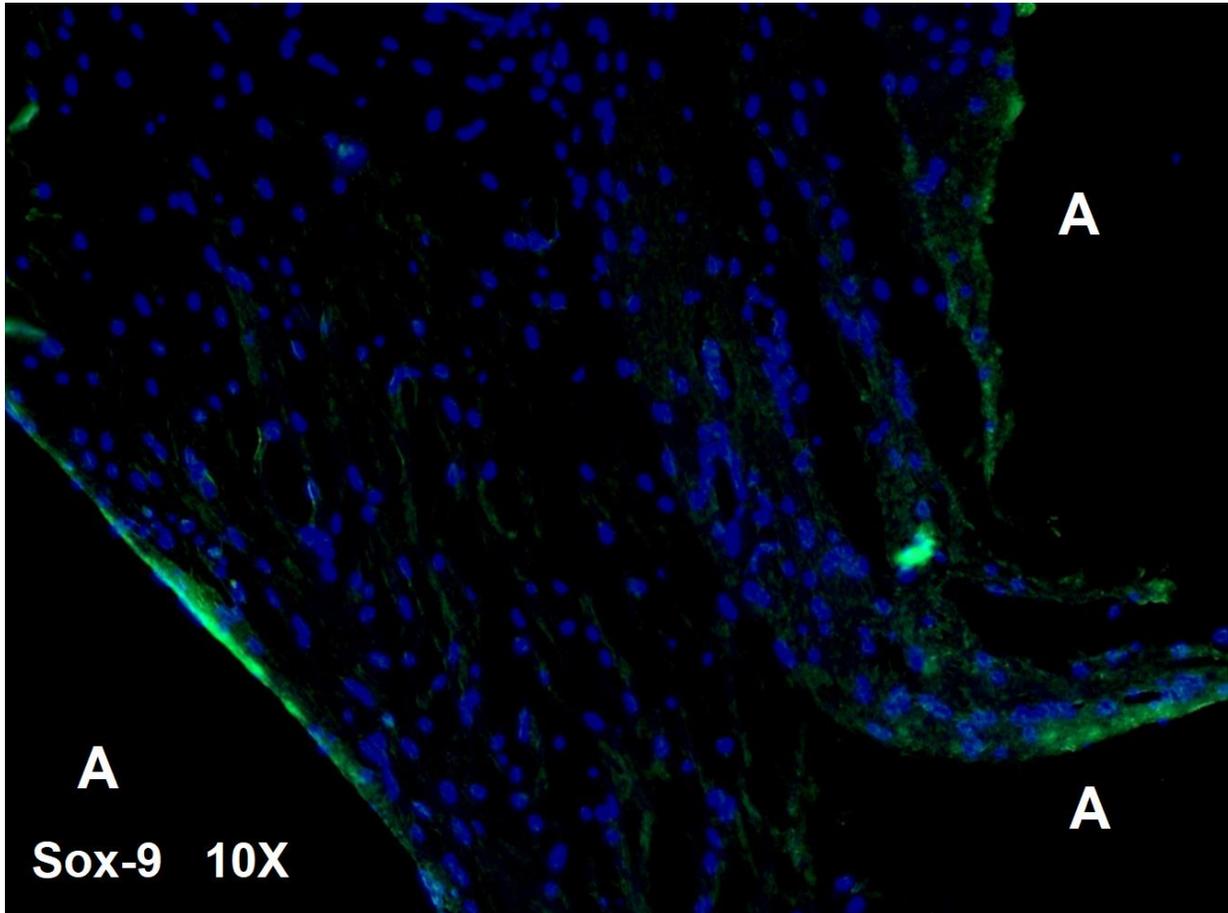


Figura N. Inmunofluorescencia para la proteína Sox-9, 10X. Se observa en azul los núcleos celulares. En verde la expresión de Sox-9 la cual es intensa y se encuentra a la periferia de donde se encontraba el andamio de policaprolactona el cual se perdió durante el proceso fijación de los cortes. La expresión de Sox-9 se vuelve más débil conforme se adentra hacia la matriz extracelular del tejido.

## Discusión y conclusiones

El propósito de este estudio fue investigar la posibilidad de obtener un prototipo de implante meniscal paciente-específico desde el punto de vista anatómico, biológico, mecánico y funcional mediante ingeniería de tejidos a través de impresión 3D el cual pueda tener un uso potencial en la clínica. Hasta donde sabemos, este es uno de los primeros estudios que examina la posibilidad de regenerar todo el menisco en un modelo animal.<sup>1,2</sup>

En este estudio, se usó un andamio fabricado por impresión 3D por deposición fundida de  $\epsilon$ - policaprolactona (PCL), que, en comparación con los procesos tradicionales como la lixiviación de partículas y el electro hilado, esta una técnica de creación rápida de prototipos que puede producir un andamio 3D con control completo de parámetros geométricos y un adecuado control en el tamaño de poro. Además, la policaprolactona es un material prometedor debido a su bioactividad superior y características mecánicas.

La caracterización de las células de menisco parece inconsistente en la literatura, y se utilizan varios términos (es decir, fibrocondrocitos, células de menisco, fibrocitos, fibroblastos, condrocitos). Independientemente del término utilizado, es evidente que en este estudio las células similares a fibrocondrocitos y la matriz extracelular tuvieron un patrón fusiforme dentro de nuestros andamios, aunque algo desorganizado. Lo cual es muy parecido a lo mencionado por la literatura.

Otros investigadores también han informado la presencia de colágeno tipos I y II en andamios meniscales implantados. En nuestro estudio, se observaron los diversos fenotipos celulares dentro de los implantes, pero con una muy evidente presencia de colágeno tipo I en comparación con una muy leve expresión de colágeno tipo II lo cual corresponde a lo descrito por la literatura para el tejido meniscal nativo.

También es importante mencionar que existió vasculogénesis dentro de los andamios pues en varios campos principalmente los que se encontraban dentro de la periferia del implante eran atravesados por algunos vasos sanguíneos de pequeño calibre.

La ausencia de infiltrados linfocitarios y de calcificaciones muestra una buena tolerancia inmunológica y adecuada diferenciación a partir de las células troncales mesenquimales derivadas de medula ósea. Esto ya ha sido reportado en otros estudios<sup>3,4</sup> las células troncales mesenquimales pueden escapar al reconocimiento inmune y exhiben una capacidad de inmunotolerancia.

Todos estos resultados indican que el andamio de PCL impreso en 3D sembrado con células madre mesenquimales derivadas de medula ósea podría ser una alternativa para el reemplazo meniscal en un futuro. Sin embargo, es de mencionar que en este estudio tuvimos 2 limitantes:

1.-No se realizaron estudios biomecánicos para definir la resistencia a la compresión, al cizallamiento y el módulo de Young de los implantes para compararlos con los datos reportados por la literatura en un menisco nativo humano.

2.- Un numero de sujetos de estudio (N) pequeño por lo cual en próximos estudios aumentaremos este número de sujetos.

Con respecto a la aplicación clínica, se debe investigar con mayor exhaustividad la presencia y el resultado de la reacción inmune y un seguimiento más largo dentro del modelo animal para verificar la bioseguridad de esta técnica.

En conclusión, este estudio, demostramos que un andamio de PCL impreso en 3D obtenido a través de un estudio de imagenología mediante ingeniería reversa y que fue sembrado con células troncales mesenquimales derivadas de medula ósea humana tuvo una adecuada biocompatibilidad y pudo preservar una adecuada viabilidad celular antes y después de su implantación en los conejos. Además de que en dichos andamios se formó tejido similar al fibrocartílago, tanto desde el punto de vista macroscópico como microscópico, en 6 semanas posteriores a su implantación y con expresión positiva de proteínas propias de cartílago en proporciones reportadas previamente por otros autores en tejido meniscal nativo. En el futuro, se continuará con esta investigación para aumentar el número de sujetos a tratar y preparar las bases científicas sólidas y suficientes para poder realizar un estudio clínico piloto bajo la reglamentación y normatividad sanitaria vigentes en México. Esperamos que este estudio sea el principio de una revolución en la manufactura y el manejo de las lesiones meniscales, en un futuro en lugar de realizar un implante de aloinjerto meniscal, los cirujanos puedan implantar un andamio con características anatómicas y fisiológicas comparables a los meniscos nativos de sus pacientes inmunológicamente compatibles con ellos al provenir de células troncales propias, para con esto prevenir el desarrollo de osteoartritis temprana en pacientes jóvenes secundaria a un síndrome post-menisectomía.

## REFERENCIAS

- 1- Zhang, Z.-Z., Wang, S.-J., Zhang, J.-Y., Jiang, W.-B., Huang, A.-B., Qi, Y.-S., ... Yu, J.-K. (2017). 3D-Printed Poly( $\epsilon$ -caprolactone) Scaffold Augmented With Mesenchymal Stem Cells for Total Meniscal Substitution: A 12- and 24-Week Animal Study in a Rabbit Model. *The American Journal of Sports Medicine*, 45(7), 1497–1511. doi:10.1177/0363546517691513
- 2- Lee CH, Rodeo SA, Fortier LA, Lu C, Eriskin C, Mao JJ. Proteinreleasing polymeric scaffolds induce fibrochondrocytic differentiation of endogenous cells for knee meniscus regeneration in sheep. *Sci Transl Med*. 2014;6(266):266ra171.
- 3- Frank MH, Sayegh MH. Immunomodulatory functions of mesenchymal stem cells. *Lancet*. 2004;363(9419):1411-1412.
- 4- Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B, et al. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *Lancet*. 2004;363(9419):1439-1441.