



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN LUIS GUILLERMO IBARRA
IBARRA

COMPARACION DE LOS NIVELES DE BIOMARCADORES DE C-TELOPEPTIDO
FRAGMENTO DE COLÁGENA TIPO II Y METALOPROTEASA 3 EN PACIENTES
CON LESIÓN DE LIGAMENTO CRUZADO ANTERIOR CON EVALUACIONES
CLINICAS FUNCIONALES DE RODILLA.

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE MAESTRIA EN CIENCIAS MEDICAS

PRESENTA:
HERNÁNDEZ ESPINO PAOLA

COMITÉ TUTOR:
DR. JOSÉ CLEMENTE IBARRA PONCE DE LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS
DRA. ANELL OLIVOS MEZA
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DR. CARLOS LANDA SOLIS
INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN

CIUDAD UNIVERSITARIA, CUIDAD DE MÉXICO A 12 DE JULIO DEL 2021.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Resumen

Introducción. La lesión del ligamento cruzado anterior (LCA) ha sido demostrado como factor de riesgo para el desarrollo de osteoartritis (OA) en un 50% de posibilidades en 10 a 20 años después de la reparación de la lesión.¹ Un estudio prospectivo en adultos jóvenes reveló una incidencia de 14% de OA de rodilla a los 65 años en aquellos que tuvieron cualquier lesión de rodilla en la juventud, comparado al 6% para aquellos sin historia de la enfermedad.² La OA post-traumática contribuye que 5.6 millones de pacientes por año (12% de todos los casos) desarrollen OA sintomática en E.U.A, con un costo estimado en 2006 de 3.06 billones por año o 0.15% de los gastos totales de salud.³ Para evitar esta evolución, uno de los objetivos de la cirugía de reconstrucción del LCA, además de restaurar la estabilidad de la rodilla y permitir al paciente retomar las actividades previas a la lesión, es normalizar la cinemática articular para prevenir cambios degenerativos precoces. Detectar cambios prospectivos de los biomarcadores podría darnos una valoración más confiable acerca de la evolución de la OA después de la reconstrucción del LCA, estadificar objetivamente a los pacientes y medir la efectividad de los tratamientos. Dentro de estos biomarcadores relacionados a la OA están las metaloproteinasas de la matriz 3 (MMP-3) que aumentan en el cartílago osteoartítico y la membrana sinovial, así como el fragmento C-Telopeptido de colagena tipo II (CTx-II), derivada del cartilago articular.⁴

Material y métodos. Se realizó una cohorte pronostica con 43 pacientes, de los cuales durante el seguimiento se perdieron 11, obteniéndose 32 pacientes (12 mujeres [37.5%] y 20 hombres [62.5%]) a los que se reconstruyó quirúrgicamente el LCA. El promedio de edad fue de 27 años \pm 8.7. Al momento de la cirugía la mediana del tiempo de la lesión era de 11 meses (RI 5-23.5). Las mediciones de CTx-II, MMP-3 y las escalas de funcionalidad de rodilla se efectuaron antes y después de la intervención quirúrgica. Considerando la posible influencia de menisco y las lesiones condrales, las diferencias pre y postquirúrgicas de los biomarcadores y las escalas de funcionalidad se contrastaron a través del coeficiente de variación de Spearman. El análisis se realizó con el paquete STATA V15 con licencia de uso para el Instituto Nacional de Rehabilitación. Los contrastes se consideraron significativos con $p < 0.05$.

Resultados. El biomarcador CTx-II aumento de la basal de suero de

465.5pg/ml a 4679.25pg/ml y en orina 154.95pg/ml a 2916.95; y del MMP-3 aumento de la basal en suero de 0pg/ml a 2814.5pg/ml y en orina de 6.95pg/ml a 318.35pg/ml. Las evaluaciones clinico funcionales todos los pacientes tuvieron mejoria en cuanto la valoración prequirúrgica y postquirúrgica con $p < 0.001$. Se observo correlación en la escala de Lysholm y MMP-3, Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score(KOOS) dolor con MMP-3 en suero, KOOS actividades de la vida diaria con CTx-II y MMP-3, aunque la relación fue inversa con mejoria clínica y aumento de los biomarcadores.

Marco Teórico

El traumatismo agudo del ligamento cruzado anterior (LCA) ha sido demostrado como factor de riesgo para el desarrollo de osteoartritis (OA) con 50% de posibilidades de desarrollar OA de 10 a 20 años después de la reparación de la lesión.¹

Un estudio prospectivo en adultos jóvenes reveló una incidencia de 14% de OA de rodilla a los 65 años en aquellos que tuvieran cualquier lesión de rodilla en la juventud, comparado al 6% para aquellos sin la historia de la enfermedad.²

Las articulaciones sinoviales son órganos cuya función depende de los distintos tejidos conectivos, incluidos los huesos, tendones, ligamentos, sinovial y cartilago articular. De estos el cartílago es el tejido con mayor grado de especialización en cuanto a propiedades biomecánicas. Proporciona una superficie de carga lubricada que permite a los huesos deslizarse entre sí de una forma libre de fricción.⁴

En el servicio de Ortopedia de Deporte y Artroscopía se reporta un promedio de 336 cirugías de reconstrucción de LCA anualmente⁵; siendo las mujeres quienes tienen de 3 a 5 veces más riesgo de padecerlas que los varones.^{1,6} Un estudio prospectivo en adultos jóvenes reveló una incidencia de 14% de OA de rodilla a los 65 años en aquellos que tuvieron cualquier lesión de rodilla en la juventud, comparado al 6% para aquellos sin historia de la enfermedad.²

La OA post-traumática contribuye 5.6 millones de pacientes por año (12% de todos los casos) en EUA de la OA sintomática, con un costo estimado en 2006 de 3.06 billones por año o 0.15% de los gastos totales de salud de E.U.A.³

Para evitar esta evolución, uno de los objetivos de la cirugía de reconstrucción del LCA, además de restaurar la estabilidad de la rodilla y permitir al paciente retomar las actividades previas a la lesión, es normalizar la cinemática articular para prevenir cambios degenerativos precoces.⁶

El LCA es una estructura intraarticular y extrasinovial, situada en la escotadura intercondílea de la rodilla, que discurre oblicuamente, desde su inserción a nivel de la región anteromedial del platillo tibial, hacia atrás, arriba y afuera, hasta la porción medial del cóndilo femoral lateral (bien posterior y arriba, cerca de la superficie articular). El LCA adopta una disposición helicoidal característica que proporciona una tensión adecuada del ligamento a través de todo su rango de movimiento. Está constituido por múltiples fascículos, regular y armónicamente orientados. Cada fibra tiene un único punto de origen e inserción, no son paralelas ni tienen la misma longitud y tampoco están bajo la misma tensión a lo largo de todo el arco de flexo-extensión de la rodilla. La longitud del ligamento es de 31 ± 3 mm, el espesor de 5 ± 1 mm y la anchura 10 ± 2 mm, las dos últimas medidas en el tercio medio del ligamento, siendo el volumen total de 2.3 ± 4 ml.⁷

Existe una estructura cartilaginosa dentro de la articulación llamados, meniscos. El menisco medial cubre el 51-74% de la meseta tibial, con un radio menisco-meseta estándar de 0.64, mientras que el menisco lateral cubre un área considerablemente mayor de la meseta tibial lateral, 75-93%, con un radio medio menisco-meseta de 0.84.⁸

El cartílago articular es el tejido conectivo altamente especializado de las articulaciones. Su función principal es proporcionar una superficie lisa, lubricada para la articulación y para facilitar la transmisión de cargas con un bajo coeficiente de fricción. El cartílago es desprovisto de vasos sanguíneos, linfáticos y nervios; están sujetos a un entorno. Tiene la capacidad limitada para la curación intrínseca y reparación. La estructura única y compleja del cartílago articular hace que el tratamiento y la reparación o restauración de los defectos sea un reto para la salud. La preservación del cartílago articular es altamente dependiente de mantener su arquitectura organizada.⁴ Se compone de una matriz densa extracelular con una distribución dispersa de células altamente especializadas llamadas condrocitos. La matriz densa extracelular se compone principalmente de agua, colágeno y proteoglicanos, con otras proteínas no colágenas y glicoproteínas presentes en menor cantidad. Estos componentes ayudan a retener el agua dentro de la matriz, lo cual es crítico para mantener sus propiedades mecánicas únicas.⁹

Junto con las fibras de colágeno de ultraestructuras y la matriz, los condrocitos aportan en varias zonas del cartílago. La zona superficial, la zona media, la zona profunda y la zona calcificada. Dentro de cada zona, 3 regiones se pueden identificar, la región pericelular, región territorial y región interterritorial.⁴

El proceso de OA está directamente relacionado con la pérdida de contenido de proteoglicanos y la composición. En la OA un alto porcentaje de proteoglicanos existen en forma no agregada, no ligada al hialuronato. La degradación de los proteoglicanos reduce la longitud de la cadena del proteoglicano e inhibe la formación de macromoléculas complejas. Esto conduce a una matriz sólida más permeable. Aunque hay aumento en el contenido de agua e hipertrofia de la matriz, el aumento de la permeabilidad de la matriz da como resultados una disminución significativa de la presión hidrostática al principio de la OA.⁹

Parte de la responsabilidad de esta evolución se debe a las alteraciones de la cinemática articular y a la capacidad de cada paciente para compensarlas correctamente, pues modifican la distribución de solicitaciones en las distintas zonas del cartílago articular de la rodilla, favoreciendo los cambios degenerativos.^{1,10}

La posibilidad de que la artrosis de la rodilla progrese, a pesar de la reparación clínicamente satisfactoria de una lesión del LCA, podría explicarse por la persistencia de alteraciones cinemáticas. Sin embargo, a diferencia de la OA primaria, la OA postraumática secundaria, se inicia por un proceso patogénico intraarticular con una fecha de inicio, el momento de la lesión y la inestabilidad subsecuente. Este hecho hace que sea una mejor candidata a intervención

temprana que la OA primaria, en donde el inicio no se define claramente en nuestros días.¹⁰

La posibilidad de detectar cambios en los biomarcadores con estudios de cohorte podrá darnos una valoración confiable acerca de la evolución de la enfermedad, así como determinar un marcador confiable de la enfermedad que pueda estadificar al paciente, así como dar seguimiento al tratamiento y su efectividad.^{11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19.}

Los marcadores utilizados en OA son los derivados de la colágena tipo II, ya que es el tipo de colágeno en mayor abundancia en el cartílago articular; dentro de otros marcadores con alta correlación entre suero y líquido sinovial están las, como la metaloproteinasa de la matriz 3 (MMP-3), que contribuye a los eventos moleculares iniciales que subyacen a la degradación patológica del cartilago.¹¹

La MMP-3 está involucrada en la cicatrización de heridas, siendo la expresión típica en los fibroblastos y células epiteliales después de la expresión de compuestos inflamatorios, por lo cual se explica la presencia de altos niveles de MMP-3 en cartílago osteoartrotico y la membrana sinovial en OA.¹²

Después del traumatismo agudo, una gama de citocinas han sido reportadas y aparecen en la misma presentación de curación de heridas e incluyen al factor de necrosis tumoral (TNF) alfa, interleucina 1beta (IL-1beta), IL-6, IL-8, antagonista de receptor de IL-1 e IL-10.¹³

Otras moléculas de la matriz como la MMP-3, el inhibidor tisular de la metaloproteinasa (TIMP-1), la proteína oligomérica de la matriz del cartilago (COMP) y fragmentos de colágena tipo II como C-telopectidasa (CTX-II) han sido demostradas persistentemente en el líquido sinovial después de la lesión del LCA.¹⁴

El reajuste de la matriz extracelular, no solo puede estar aumentado en la rodilla afectada, sino que las concentraciones de agregano, COMP, MMP-3 y CTX-II se elevan en la rodilla contralateral. Un modelo canino con ruptura de LCA, también demuestra aumento en la síntesis y reajuste de los proteoglicanos en la artritis temprana.¹⁵

Los biomarcadores se han desarrollado con el objetivo de detectar cambios en la OA con mayor fiabilidad y sensibilidad, preferiblemente en una etapa temprana.¹⁶ Son moléculas derivadas del tejido conectivo que son liberados en el líquido sinovial. Los colágenos son los principales componentes fibrilares de la mayoría de los tejidos conectivos. Los colágenos forman una familia de proteínas, y cada tipo tiene su propia secuencia característica de aminoácidos. Estos se sintetizan y secretan fuera de las células como procolágenos. Durante la secreción, propéptidos carboxiloterminales y aminoterminales son escindidos de la molécula original por proteasas específicas. Esto libera la molécula de colágeno, junto con sus respectivos propéptidos procolágeno, en cantidades estequiométricas en el

espacio extracelular. Las moléculas de propéptido son entonces más degradadas por la no-proteasas.^{17, 18, 19.}

Tales marcadores podrían ser útiles para la identificación precoz de los pacientes con artrosis o paciente con alto riesgo de progresión, para la vigilancia progresión de la enfermedad, y para evaluar la respuesta terapéutica en la OA, todo debido a su mayor sensibilidad en comparación con el estudio radiográfico.^{10,19.}

Catterral y colaboradores, realizaron un estudio en 11 pacientes con lesión aguda de LCA en el tiempo basal (15 ± 7.2 días) y después de la cirugía de reconstrucción de LCA (47.6 ± 12.4 días de la lesión). Encontró que Interleucina 1b, Agregano fetal FA846, CTx-I, N-Terminal Telopeptido(NTx), Osteocalcina, Proteína de la Matriz Oligomérica del Cartilago (COMP) y MMP-3 se elevaron en el líquido sinovial significativamente en comparación con el suero, esto implicando que provenían de la rodilla afectada. De estos biomarcadores, CTX-I, NTx, osteocalcina y MMP3 se encontraron con alta correlación en suero. La concentración en suero de CTX-II fue de 0.66 ± 31 ng/ml en el estado preoperatorio de dichos pacientes y la correlación con el líquido sinovial fue alta ($r=0.819$).²⁰

Existen varias escalas de valoración en rodilla, validadas en español, utilizadas en múltiples estudios de población de la Ciudad de México.^{21, 22.} La escala Internacional Knee Documentation Comitee (IKDC), ha sido utilizada en estudios con población Mexicana, como lo reporta Zapién-Soto.²³ La escala de Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score(KOOS) por Vaquero²⁴ y Arellano Cuatle²⁵, Lysholm ha sido validada para versión en español por Arroyo Morales²⁶; Collins²⁷ en 2011 y Peña²⁸ en 2020. La escala de Tegner validada también en población mexicana y latinoamericana.^{21,22.}

La escala Internacional Knee Documentation Comitee, tiene como objetivo detectar la mejora o deterioro de los síntomas, función y actividades deportivas debido a la rodilla. Esta diseñada para paciente con patología de rodilla como lesión ligamentaria, lesiones meniscales, lesiones cartilaginosas y patelofemorales. Realizado en 1987 revisado en 1994 y posteriormente evaluado desde el 2001. El puntaje de cada pregunta va de 0 que representa mayor sintomatología y 10 representa sin sintomatología. Contiene 18 preguntas (siete de síntomas, una de actividades deportivas, nueve de actividades de la vida diaria y una de función actual de la rodilla). El puntaje total es calculado de la siguiente manera (suma de las respuestas)/(puntaje máximo) X 100, el máximo puntaje es 100 y el mínimo de 0.²⁹

La escala de Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score(KOOS) tiene como objetivo valorar problemas de corto y largo plazo de seguimiento (1 semana a 10 años). En pacientes con lesiones que pueden conducir a la OA como lesiones ligamentaras, meniscales y lesiones condrales. Contiene cinco apartados, frecuencia y severidad del dolor a las actividades de la vida diaria, síntomas tales como edema, crepitación, restricción de movilidad; dificultad para actividades de la vida diaria y para actividades deportivas y recreacionales; y calidad de vida. Incluye

42 preguntas a través de 5 subescalas. Evaluadas del 0-4 para cada pregunta. El puntaje va de 0 que representa el máximo problema y 100 sin problemas.³⁰

La escala funcional de Lysholm evalúa lesiones ligamentarias, particularmente síntomas de inestabilidad. Incluye 8 apartados, el puntaje total es la suma de cada respuesta a los 8 apartados. El rango va desde 0 a 100 donde 100 es sin síntomas o inestabilidad. Existen categorías para el puntaje que va de 100 a 95 excelente, de 94 a 84 bueno, 83 a 65 adecuado y menor de 64 malo.^{31, 32.}

La escala de Tegner valora el grado de actividad laboral y actividades deportivas, basada en la escala de Lysholm. Evalúa puntos como actividades de la vida diaria, recreación, deportes de competencia. Una escala de 0 a 10 basada en el nivel de actividad, donde 0 representa patología de rodilla con incapacidad funcional, en los niveles del 6 a 10 puede corresponder a personas que realizan deportes en competencia o recreacionales. El puntaje de 10 representa a personas que realizan actividades deportivas de alto nivel.^{33, 34.}

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Aunque el campo de los biomarcadores de la osteoartritis se encuentra todavía en una etapa inicial, ya que se cuenta con mas estudios en pacientes con enfermedad reumatica, preveemos que la aportación del estudio tendrá un mejor entendimiento de la evolución de la osteoartritis; lo cual nos podrá evaluar de manera mas objetiva el desarrollo, control de tratamiento y desenlace de los pacientes que han sido sometidos a reconstrucción de LCA.

Se desconoce si la reparación del ligamento cruzado anterior permite, que el desarrollo de OA avance y si los biomarcadores CTx-II y MMP-3 tienen cambios aún con la reparación de las lesiones en rodilla, así como la evolución clínica de los pacientes en comparación con los niveles de los biomarcadores.

Se espera encontrar un patrón reconocible y correlacionable entre los niveles de CTx-II y MMP-3; y los resultados clínicos funcionales objetivos y subjetivos evaluados mediante las escalas funcionales de rodilla Lysholm, IKDC subjetivo y objetivo, KOOS y Tegner.

¿Cuál será el efecto de cambio de los biomarcadores CTx-II y MMP-3 en el pronóstico de la mejoría clínica según las escalas funcionales de rodilla, en pacientes con lesión LCA?

JUSTIFICACIÓN.

El trauma agudo al LCA o menisco ha sido demostrado como factor de riesgo para el desarrollo de OA con un 50% de posibilidades de desarrollarla de 10 a 20 años después de la reparación de la lesión.¹

Las lesiones a la rodilla constituyen un riesgo de OA en gente joven.⁶ Las lesiones al LCA representan un cuarto de las lesiones de rodilla con una incidencia anual de al menos 81 por 100,000; se han reportado 246,000 lesiones y 175,000 reconstrucciones por año en E.U.A en pacientes de 10 a 64 años de edad.³

Estudiar los biomarcadores de OA temprana permitirá estratificar grupos en riesgo y desarrollar estrategias de tratamiento novedosas y efectivas que pudieran ser empleadas para tratamiento y reducir el riesgo del desarrollo de OA post-traumática y así mejorar la atención de nuestros pacientes.

¿Cuál será el efecto de cambio de los biomarcadores CTx-II y MMP-3 en el pronóstico de la mejoría clínica según las escalas funcionales de rodilla, en pacientes con lesión LCA?

HIPÓTESIS.

Después de la cirugía de reconstrucción de LCA, los niveles de los biomarcadores CTx-II y MMP-3 disminuirán y se correlacionará con la mejoría de los síntomas mediante las escalas funcionales de rodilla.

OBJETIVOS.

OBJETIVO GENERAL:

Determinar relación entre el cambio de los niveles de CTx-II y MMP-3 con la mejoría clínica según las escalas funcionales de rodilla en pacientes con lesión de LCA.

Comparar los niveles de biomarcadores de c-telopeptido fragmento de colágena tipo II y metaloproteasa 3 en pacientes con lesión de ligamento cruzado anterior con evaluaciones clínicas funcionales de rodilla.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Determinar la relación entre el porcentaje de cambio de los niveles de CTx-II y MMP-3, con lesiones meniscales asociadas a lesión de LCA.

Determinar la relación entre el porcentaje de cambio de los niveles de CTx-II y MMP-3, con lesiones condrales asociadas a lesión de LCA.

METODOLOGÍA.

TIPO DE ESTUDIO.

Estudio de cohorte, prospectivo, longitudinal.

UNIVERSO DE TRABAJO.

En el Servicio de Artroscopía y Medicina del Deporte del Instituto Nacional de Rehabilitación se reciben frecuentemente pacientes con patología de lesión LCA. Se tomará como universo de trabajo pacientes de entre 18 a 45 años con lesión de LCA que se encuentren programados para tratamiento quirúrgico para reconstrucción de LCA.

SELECCIÓN DE PACIENTES:

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

Edad entre 18 y 45 años.

Ambos sexos.

Expediente completo.

Con un diagnóstico clínico y por resonancia magnética de lesión del LCA que sean sometidos a cirugía.

Evaluaciones preoperatorias completas.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

Enfermedades reumáticas

Fracturas

Descontrol Metabólico

Infecciones articulares previas

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN:

Pacientes perdidos en el seguimiento

Pacientes que no asistan a toma de muestras en tiempo establecido

Infecciones postoperatorias

TAMAÑO DE MUESTRA:

Debido a que en la revisión de la literatura únicamente se conoce la dirección del CTx-II y MMP-3 (disminuye el valor después de la cirugía) y no la magnitud en la respuesta funcional, el protocolo es de carácter exploratorio, por lo que serán incluidos todos los pacientes que reúnan los criterios de selección en el periodo establecido.

MUESTREO:

Se realizó un muestreo de tipo no probabilístico, no aleatorio de casos consecutivos, según aquellos sujetos que reúnan los criterios de selección en el período marzo del 2003 a marzo del 2005.

PROCEDIMIENTOS:

A los pacientes que se encuentren programados para reconstrucción de LCA, se les realizó las siguientes valoraciones preoperatorias:

1. Protocolo radiográfico: consistente en proyecciones anteroposterior (AP), y lateral de rodilla.
2. Imagen por resonancia magnética (IRM): Para evaluar el estado de los ligamentos, confirmar la ruptura completa y diagnosticar lesiones adicionales como lesiones meniscales y lesiones condrales.
3. Valoraciones clínico funcionales de rodilla: Se aplicaron las escalas internacionales estandarizadas(anexo 1): Escala de Tegner, Escala de Lysholm, Escala de IKDC subjetiva, Escala de IKDC objetiva, Escala de KOSS.
4. Exámenes preoperatorios: BH, QS, tiempos de coagulación, grupo y Rh y EGO.
5. Valoración por Medicina Interna en caso necesario.
6. Se proporcionó a enfermería un tubo rojo Serum de la marca BD Vacutainer® para muestra de sangre, para que bajara con el paciente y tomara la muestra en preanestesia o donde se canalizó al paciente.

Procedimiento de toma de las muestras

1. Sangre: En pre-anestesia al canalizar al paciente se tomó 5cc de sangre en un tubo rojo Serum con técnica estéril. Y a los dos años de seguimiento en la consulta externa se tomó la muestra en consultorio, antes de las 12:00hrs para evitar sesgos por el ciclo circadiano de los biomarcadores.
2. Orina: Se le solicitó al paciente dar una muestra en un tubo esteril, El cual fue otorgado por los investigadores al ingreso de los pacientes a hospitalización o en la consulta externa.

Todas las muestras se etiquetaron por separado y se les puso un ID, nombre, edad, expediente, prequirúrgico o postquirúrgico, fecha de recolección y tipo de lesión.

Las muestras se centrifugaron a 1000xg por 15 minutos. Una vez que se obtuvo el suero de la muestra de sangre y orina se alíquotaron en 120µl y se congelaron a -20°C. Al momento de realizar la prueba de ELISA para CTx-II y MMP-3, las muestras se descongelaron lentamente y se centrifugaron nuevamente, evitando realizar múltiples ciclos de congelación-descongelación. Las muestras se procesaron mediante el kit comercial de ELISA (Cloud-Clone Corp.) para CTx-II y MMP3. El protocolo se utilizó siguiendo las recomendaciones del fabricante.

Tratamiento quirúrgico

A los pacientes se les realizó el procedimiento de reconstrucción de LCA por el servicio de artroscopia del Instituto Nacional de Rehabilitación. Se realizó reconstrucción artroscópica bajo bloqueo subaracnoideo y regional. Usando portales estándar, se realizó el diagnóstico artroscópico y la identificación de lesiones asociadas. La reconstrucción del LCA se realizó con injerto autólogo de semitendinoso-recto interno, mediante portal medial, con fijación cortical en el lado femoral y de interferencia en el lado tibial. Al término del procedimiento, se suturaron los portales, se cubrieron con apósitos estériles y vendaje elástico. Los pacientes fueron dados de alta al primer día postoperatorio si no existió contraindicación. El protocolo de rehabilitación se individualizó según el caso y consistió en apoyo libre a tolerancia con flexión a 90 grados de la rodilla, se retiraron puntos de portales a las 2 semanas y continuó con rehabilitación con ejercicios de fortalecimiento progresivo hasta los 3 meses de la cirugía, y el regreso a la actividad física habitual o actividad deportiva hasta los 6 meses, dependiendo del caso.

Seguimiento

A su egreso, todos los pacientes se citaron en la consulta a los 10 días de la cirugía para retiro de puntos y revisión general. Así como citas subsecuentes establecidas por cada médico adscrito. Se tomaron controles de suero y orina a dos años después del tratamiento quirúrgico y se realizaron las escalas funcionales de rodilla.

ANÁLISIS DE RESULTADOS Y REPORTE.

Se realizó el registro final de la base de datos, interpretación de la base de datos de los pacientes intervenidos, elaboración del análisis estadístico y elaboración del reporte final.

DESCRIPCIÓN DE VARIABLES DE ESTUDIO Y ESCALAS DE MEDICIÓN.

VARIABLES INDEPENDIENTES.

Variable	Medida	Tipo
Edad	Años cumplidos	Cuantitativa discreta
Sexo	Masculino/ Femenino	Nominal dicotómica
Peso	Numérica	Cuantitativa discreta
IMC	Numérica	Cuantitativa discreta
Lesion de menisco	Si, No	Nominal dicotómica
Lesion condral	Si, No	Nominal dicotómica
Escala de percepción de rodilla KOOS	Numérica	Cuantitativa discreta
Escala de percepción de rodilla Lysholm	Numérica	Cuantitativa continua
Escala de percepción de rodilla IKDC Subjetivo	Categorica	Cualitativa ordinal

Escala de percepción de rodilla IKDC Objetivo	Numérica	Cuantitativa discreta
Escala de percepción de rodilla Tegner	Numérica	Cuantitativa continua

VARIABLES DEPENDIENTES.

Variable	Medida	Tipo
CTX-II	pg/ml	Cuantitativa continua
MMP-3	pg/ml	Cuantitativa continua

VARIABLES CONFUSORAS

Variable	Sesgo	Acción
Sexo	El sexo femenino puede influir en los valores de biomarcadores por factores hormonales	Se tratará de realizar un muestreo homogéneo, para evitar sesgos.
Tiempo de evolución	Los pacientes acuden con lesiones crónicas(>6 meses), por lo cual los niveles pueden modificarse.	Se hará un análisis de regresión lineal para ver si el tiempo de evolución está relacionado con los niveles de CTx-II y MMP-3
Tiempo de toma de muestra	Los niveles de CTx-II y MMP-3 tienen ciclo circadiano.	Solo se tomara muestra en el horario antes de las 12:00hrs.
Técnica de toma de muestra	La muestra no es adecuadamente recabada, se puede hemolizar lo cual alterara los niveles de CTx-II y MMP-3	Se entregara un manual al servicio de enfermería en preanestesia y médicos residentes, para la correcta recolección de la muestra

ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Estadística descriptiva: Se realizó pruebas de normalidad (Shapiro-Wilks) para determinar la distribución paramétrica de los datos cuantitativos. Los datos se presentaron en mediana y rango intercuartilico(RI). Las variables cualitativas son expresadas en frecuencias.

Estadística inferencial: Se realizó análisis comparativo con U de Mann-Whitney entre los niveles de biomarcador pre y postquirúrgicos, así como de las escalas de valoración funcional. En el análisis de coeficiente de variación de Spearman para determinar la correlación entre los resultados funcionales y los niveles de biomarcadores prequirúrgicos y postquirúrgicos, para los niveles correspondientes de CTx-II y MMP-3.

Para las diferencias postquirúrgicas y prequirúrgicas de los biomarcadores y las escalas se realizó la prueba de Kruskal Wallis.

Se realizó correlación entre los niveles de biomarcadores y escalas funcionales preoperatorias y postoperatorias para determinar si existe relación de mejoría funcional con niveles de biomarcadores, con el coeficiente de variación de Spearman.

El análisis se realizó con el paquete STATA versión 13. Los contrastes se consideraron significativos con $p < 0.05$.

IMPLICACIONES ÉTICAS.

Según la Ley General en Salud en Materia de Investigación, con la Reforma de 2018, en el Artículo 17 sección B el riesgo de la investigación por tratarse de una maniobra no cegada basada en tratamiento habitual, pero con toma de muestras séricas se clasifica como UNA INVESTIGACIÓN DE RIESGO MÍNIMO.

Según el principalismo médico, se realizarán las siguientes medidas:

AUTONOMÍA: A cada potencial participante se solicitará su participación voluntaria y si decide aceptar se le solicitará la autorización por escrito mediante la

firma del consentimiento informado. Se mantendrá el anonimato de los participantes.

JUSTICIA: todos los sujetos con características de elegibilidad para ser sujetos de investigación serán invitados a participar.

BENEFICENCIA Y NO MALEFICENCIA: las maniobras establecidas están comprobadas en seguridad y eficacia; en caso de detectarse complicaciones asociadas, los investigadores realizarán una estrategia para cubrir las lesiones desprendidas de la misma.

En este estudio, el riesgo de tener un evento adverso por la toma de muestra de sangre es prácticamente nulo. Se requerirán alrededor de 5 ml de sangre por paciente para la evaluación completa. Así como la toma de orina en un frasco estéril.

A cada potencial participante se solicitará su participación voluntaria y si decide aceptar se le solicitará la autorización por escrito mediante la firma del consentimiento informado. (anexo 2)

El costo de los exámenes de laboratorio y de ELISA para CTx-II y MMP-3 se realizará por los departamentos participantes. No habrá incentivo económico por la participación en el estudio.

No existe el riesgo de infecciones por biológico-infecciosos, ya que el material utilizado es estéril y con técnicas asépticas.

RESULTADOS:

Al inicio del estudio se reclutaron 43 pacientes, siendo el 65% hombres (n=28) y el 35% mujeres (n=15). Durante el seguimiento 11 pacientes no asistieron al tiempo determinado para la toma de la segunda muestra de sangre, por lo que fueron excluidos (Figura 1);

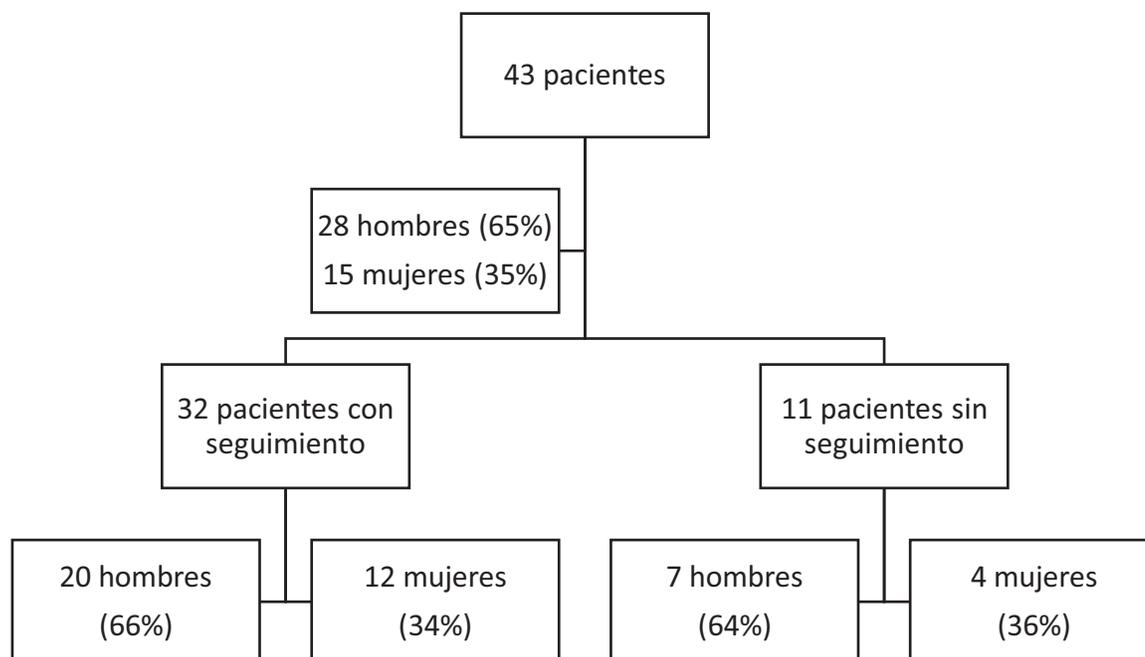


Figura 1. Diagrama de flujo pacientes en el estudio.

Para el análisis se incluyeron 32 pacientes con diagnóstico de lesión de LCA de los cuales 20 son hombres (62.5%) y 12 mujeres (37.5%), con una mediana de edad de 22.5 años RI(19-33), peso de 70Kg RI(63-80), talla de 1.68 (1.63-1.75), IMC de 25 RI(22.4-27.1) (Tabla 1).

Tabla 1. Características antropométricas y clínicas de la población de estudio

Prequirúrgico		
Genero	Masculino	20 (66%)
	Femenino	12 (34%)
Edad	22.5 (RI 19,33)	

Peso	70 (63-80)
Talla	1.68 (1.63,1.75)
IMC	25 (22.4-27.1)
Tiempo de lesión	11 (5-23.5)
Lesión menisco	24 (75%)
Lesión condral	12 (38%)
Lesión condral + Lesión de menisco	8 (25%)

Durante el seguimiento, se registraron 11 pacientes que no se presentaron a la segunda medición, las características de estos fueron: ocho hombres y 3 mujeres, con una mediana de edad de 26 años (RI 22-36), talla 1.77mt. (RI 1.74-1.8), peso de 74.5kg. (62.5-79) y la mediana del IMC fue de 24.95 (19.25-26.75). El tiempo de lesión de 21 meses (RI 15-69)

El tiempo de la lesión a la cirugía fue una mediana de 11 meses (RI 5-23.5), encontrándose una diferencia por género ya que los hombres tuvieron mayor tiempo de lesión que las mujeres [14 meses (RI 8-24) VS 7 meses (RI 3-16)]

En el biomarcador de CTx-II se obtuvo una mediana basal de suero de 465.5 pg/ml (RI 0-1226.6) comparado con el postquirúrgico de 4679.25 pg/ml (RI 2745-6401.55) ($p < 0.001$), mientras que en orina la mediana basal fue de 154.95pg/ml (RI 59.1-308.8) con un ascenso a 2916.95pg/ml(RI 707-4332.15) ($p < 0.001$)(Figura 1).

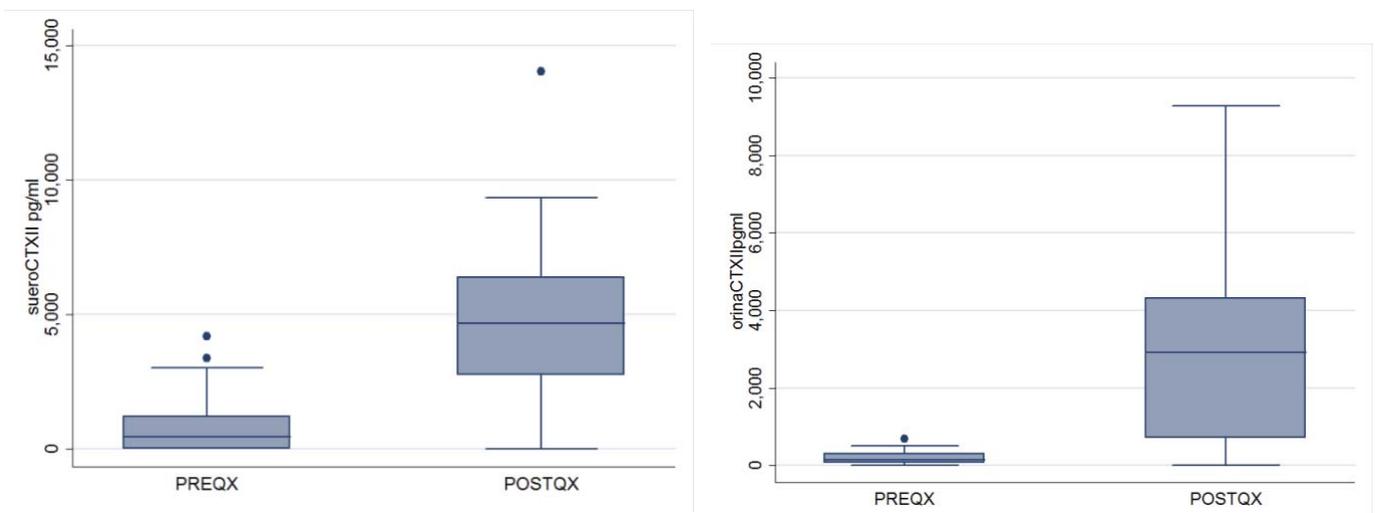


Figura 1. Niveles de biomarcador CTx-II pre y postquirúrgicos, suero y orina.

En el biomarcador de MMP-3 la mediana basal en suero fue de 0 pg/ml y la postquirúrgica fue de 2814.5 pg/ml (RI 2234.4-3733.35) ($p < 0.001$), mientras que la mediana basal en orina fue de 6.95 (0-140.6) comparado con la postquirúrgica de 318.35(0-814) ($p < 0.02$) (Figura 2).

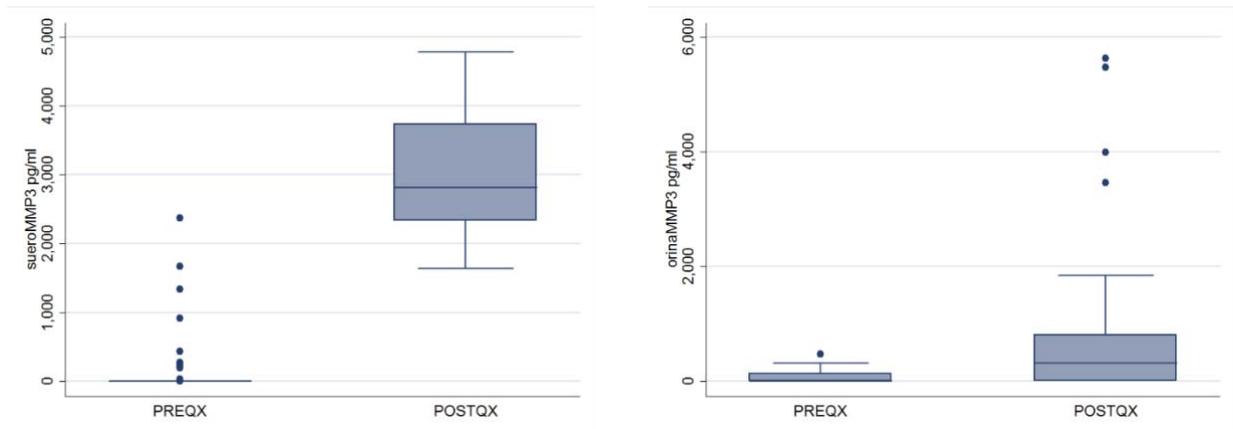


Figura 2. Niveles de biomarcador MMP-3 pre y postquirúrgicos, suero y orina

La medición de los biomarcadores analizados (CTx-II y MMP-3) tiene mayor sensibilidad y especificidad en suero que en orina.

En la figura 3 se puede observar las curvas ROC de los biomarcadores CTx-II y MMP3 en orina y en suero, sin embargo, se puede observar que en suero se obtiene una mejor sensibilidad tanto para CTx-II con un 90% (IC 95% 82-98) y para MMP3 un 99% (IC 95% 97-100).

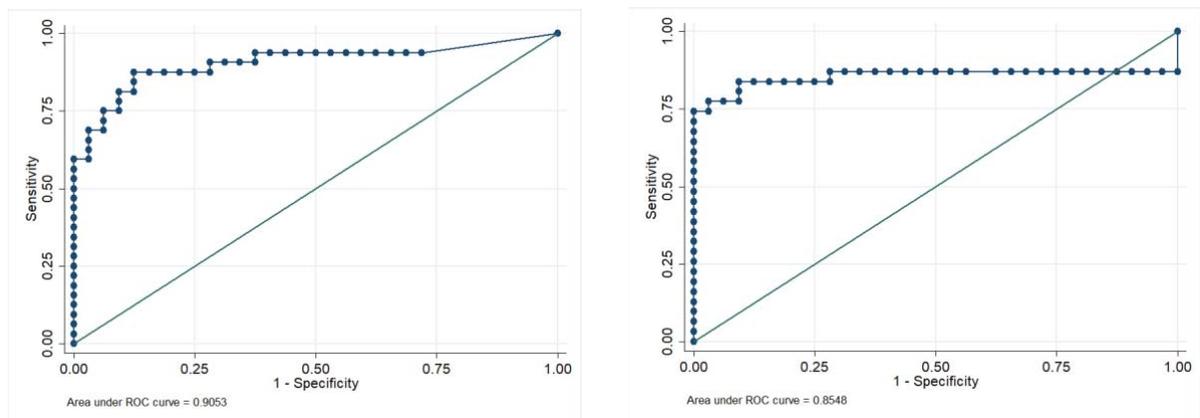


Figura 3. Tabla ROC de pruebas de CTX-II en suero 90% sensibilidad y orina 85% sensibilidad.

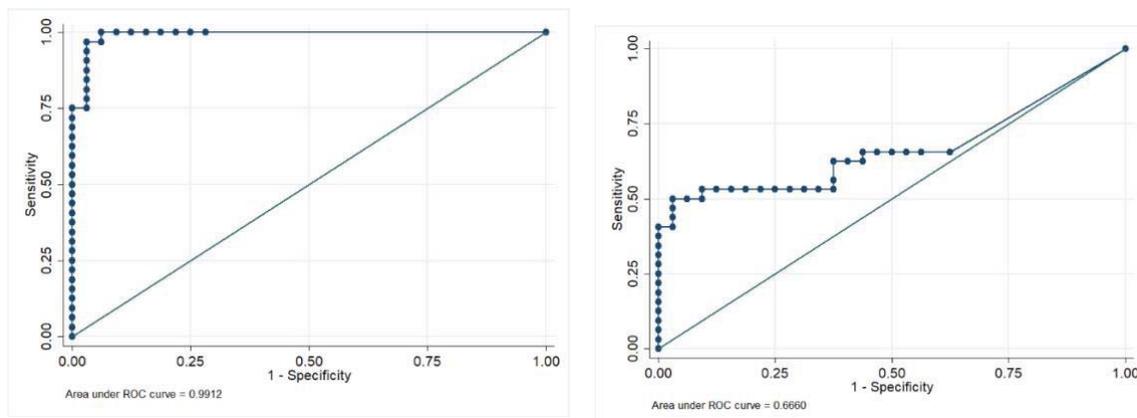


Figura 3. Tabla ROC de pruebas de MMP-3 en suero 99% sensibilidad y orina 66% sensibilidad.

Existe un aumento significativo del CTx-II en suero cuando la ruptura de LCA se asociaba a (306.7 pg/ml (RI 0-1139) vs 5347.2 pg/ml (RI 2079.5-7388.3)) ($p < 0.001$). Así mismo, el CTx-II incrementó de forma significativa al existir lesión condral asociada a la reconstrucción del LCA (0 pg/ml (RI 0-216.7) vs 2792.1 pg/ml (RI 2399.8-3526.3)) ($p < 0.001$).

En cuanto a la evaluación clínica todos los pacientes presentaron mejoría funcional al ser evaluadas por las escalas de rodilla (IKDC-O, IKDC-S, KOOS, Lysholm, Tegner) (Tabla 2).

Tabla 2. Resultados funcionales de los pacientes post-operados de reconstrucción de LCA

Escalas	Prequirúrgico	Postquirúrgico	Diferencia pre/postqx	p
Tegner QX	2 (2-3)	4.5 (3-5)	2.5	<0.001
Lysholm	61(43.5-76)	94(78-99)	33	<0.001
IKDC S	49.4(33-60.9)	73 (62.1-90.8)	23.6	<0.001
IKDC O	2 (2-3)	2 (1-2)	0	<0.001
KOOS S	64.3 (35.55-78.6)	85.7 (71.4-92.9)	21.4	<0.001
KOOS D	66.45 (45.85-84.65)	83.33 (75-97.2)	16.88	<0.001
KOOS SVD	75.75 (48.5-89.6)	94.1 (86.8-100)	18.35	<0.001

KOSS DYR	35 (14.5-62)	75 (40-90)	40	<0.001
KOOS CDV	15(6.3-37.5)	50(25-56.3)	35	<0.001

*Mediana (Rango intercuartilico (RI)); U de Mann-Whitney

En la escala de IKDC Objetivo, la diferencia en promedio entre la valoración preoperatoria y la postoperatoria fue de 0, aunque en el análisis comparativo, si represento una diferencia significativa, ($p < 0.001$). La escala IKDC Subjetivo, la diferencia fue de 23.6 para mejoría, siendo significativa.

En la escala de KOOS la diferencia entre los apartados entre el prequirúrgico y postquirúrgico fueron significativos, representando una mejoría clínica para los pacientes.

En la escala de Lysholm se encontraron los siguientes resultados (Tabla 3).

Tabla 3. Resultados de escala de Lysholm.

Rango	Prequirúrgico	Postquirúrgico
Excelente >95	0	12 (40%)
Bueno 84-94	3 (6.98%)	8
Adecuado 65-83	11 (34.38)	9
Malo <64	24	1
Total	32 (100%)	32 (100%)

Una vez operados los pacientes se observó que los hombres tienen puntaje de Excelente en 47% versus las mujeres 27%; sin embargo estas diferencias no son estadísticamente significativas.

En el preoperatorio se observó correlación de la escala de Lysholm y MMP-3, KOOS Dolor con MMP-3 en suero, KOOS Actividades de la vida diaria con CTx-II y MMP-3, aunque la relación fue inversa, con mejoría clínica, y con aumento de los biomarcadores.

Tabla 4. Correlación de biomarcadores con escalas prequirúrgicas.

Preoperatorio		CTx-II (pg/ml)		MMP-3 (pg/ml)	
		ORINA	SUERO	ORINA	SUERO
TEGNER	rho	-0.1076	0.1574	-0.1333	0.0717

	P VALUE	0.5577	0.3896	0.4672	0.6965
LYSHOLM	rho	-0.1959	0.3292	-0.2548	0.3584*
	P VALUE	0.2826	0.0658	0.1594	0.044
IKDC S	rho	-0.0814	0.1374	-0.1196	0.1961
	P VALUE	0.6634	0.4611	0.5217	0.2905
IKDC O	rho	-0.0395	-0.3334	-0.0143	-0.3383
	P VALUE	0.8328	0.0668	0.9391	0.0627
KOOS S	rho	-0.0474	0.3107	-0.094	0.3381
	P VALUE	0.7966	0.0835	0.6087	0.0584
KOOS D	rho	-0.0661	0.2881	-0.1222	0.3873*
	P VALUE	0.7194	0.1098	0.5051	0.0285
KOOS AVD	rho	0.0156	0.3705*	-0.0613	0.4437*
	P VALUE	0.9325	0.0369	0.7388	0.011
KOOS DYS	rho	-0.1051	0.0221	-0.124	-0.0287
	P VALUE	0.5671	0.9044	0.499	0.876
KOOS CDV	rho	-0.162	-0.0515	-0.1093	-0.0363
	P VALUE	0.3841	0.7833	0.5582	0.8462

En el postoperatorio se observó correlación entre la escala de KOOS Actividades de la Vida Diaria y MMP-3, de la misma forma con mejoría clínica y aumento de biomarcador.

Tabla 5. Correlación de biomarcadores con escalas postquirúrgicas.

Postoperatorio		CTx-II (pg/ml)		MMP-3 (pg/ml)	
		ORINA	SUERO	ORINA	SUERO
TEGNER	rho	0.0466	0.1151	-0.2195	-0.285
	P VALUE	0.807	0.5446	0.2438	0.1269
LYSHOLM	rho	-0.0541	-0.0179	-0.1753	-0.0193
	P VALUE	0.7766	0.9254	0.3542	0.9193
IKDC S	rho	-0.1318	-0.1399	-0.1656	-0.3167
	P VALUE	0.4877	0.461	0.382	0.0882
IKDC O	rho	-0.0156	0.3278	-0.2361	-0.2501
	P VALUE	0.9347	0.077	0.209	0.1826
KOOS S	rho	-0.1093	-0.1467	-0.1572	-0.0235
	P VALUE	0.5652	0.4393	0.4066	0.902
KOOS D	rho	-0.1102	-0.1358	-0.2688	-0.0188
	P VALUE	0.562	0.4742	0.1509	0.9213
KOOS AVD	rho	0.0075	-0.0138	-0.4444*	0.027

	P VALUE	0.9684	0.9421	0.0139	0.8873
KOOS DYR	rho	-0.1604	-0.1838	-0.2151	-0.3398
	P VALUE	0.3972	0.331	0.2536	0.0662
KOOS CDV	rho	-0.1468	0.1286	-0.2691	0.2903
	P VALUE	0.4389	0.4984	0.1504	0.1196

Por tiempo de evolución no existen diferencias entre los marcadores en orina y suero en el CTx-II. Sin embargo, en MMP-3 si existió una diferencia entre la estratificación de grupos (< a 6 meses, 6 a 12 meses y > a 12 meses) en suero, aumentando el valor de la mediana del biomarcador (p 0.007).

En el análisis de regresión de Spearman de diferencias entre los CTx-II en suero, CTx-II en orina y MMP-3 en orina, con las escalas funcionales, no hubo relación entre las variables. Solamente en la MMP-3 en suero se observó un incremento significativo del biomarcador.

En cuanto a la correlación de Spearman del biomarcador de MMP-3 con las escalas funcionales solo hubo diferencia significativa en KOOS-Calidad de Vida rho= 0.52, p 0.003.

Discusión

El presente estudio abordó la comparación de biomarcadores CTx-II y MMP-3, en pacientes con lesión de ligamento cruzado anterior, el cual ya ha sido reportado por Wang^{35,36} y Nicolli³⁷ como un factor de riesgo para el desarrollo de la OA temprana. Las mujeres tienen mayor riesgo de padecer lesiones de LCA en deportes sin contacto, debido a un mayor valgo en la rodilla en los movimientos de pivote y desaceleración, así como también en la fase de aterrizaje después del salto.^{38,39} Los factores de riesgo intrínsecos supuestos comúnmente incluyen: laxitud generalizada y específica de la articulación de la rodilla, ancho del surco intercondilar pequeño y estrecho, fase preovulatoria del ciclo menstrual en mujeres que no usan anticonceptivos orales, disminución de la fuerza y el reclutamiento de los isquiotibiales (con respecto al cuádriceps), fatiga muscular, ángulos bajos de flexión del tronco, cadera y rodilla, y alta dorsiflexión del tobillo al realizar deporte, desplazamiento lateral del tronco y aducción de la cadera combinados con un

aumento de los momentos de valgo dinámico de la rodilla y aumento de la rotación interna de la cadera y la rotación externa tibial con o sin pronación del pie.⁴⁰ En el presente estudio se reporta mayor prevalencia de hombres con lesión de LCA, aunque no se trata de pacientes deportistas o con actividad física cotidiana. Ambos géneros con lesión de LCA son adultos jóvenes en edad productiva, afectando su calidad de vida y vulnerables a presentar tempranamente OA postraumática, hasta 4 veces más que sin lesión del LCA como lo reportan Wang^{35,36}, Cinque⁴¹, Alonso⁴², Poulsen.⁴³

La OA es una enfermedad degenerativa, en ocasiones incapacitante, que causa daño a la articulación irreversible, por lo cual un diagnóstico temprano puede ofrecer una oportunidad para la intervención de la progresión, así como mejoría en la sintomatología. Los métodos diagnósticos en la actualidad como el estudio de imagen tiene baja especificidad y sensibilidad, así como ser observador dependiente.

El estudio de imagen considerado el gold estándar es la radiografía, pero esta no evalúa el impacto de la progresión de OA. Otro estudio de imagen de utilidad es la resonancia magnética, pero por su elevado costo es de difícil acceso. En el ensayo clínico de Leung⁴⁴ se encontró correlación entre pérdida de cartílago y sinovitis en la resonancia con el nivel urinario de CTx-II, lo cual significa que el biomarcador se encuentra en relación con el desgaste del cartílago tipo II presente en las articulaciones sinoviales. El colágeno tipo II es un componente importante del cartílago articular, que está involucrado en la reconstrucción y reparación del mismo.

Este biomarcador es frecuentemente medido en orina para medir la degradación del cartílago articular en pacientes con OA comparados con controles.^{45,46}

Existen varios estudios que reportan en adultos mayores sanos (sin OA) concentraciones de CTx-II en suero de 67.12 pg/ml(27(Wang)) y en población joven sana 6700 pg/ml (Nicolini) y en pacientes con OA de 105.41 pg/ml-478.8ng/mmol(40(García-Alvarado)).^{43,45,47}

Los biomarcadores de OA (CTx-II y MMP-3) se incrementan significativamente después de la lesión del LCA.⁴⁸ El incremento de los

biomarcadores de CTx-II y MMP-3, en este estudio, no está influenciado por el tiempo de evolución de la lesión a el tiempo de cirugía, ya que no se vio diferencia entre los diferentes grupos de tiempo de evolución: menor de 6 meses, de 6 a 12 meses y mayor de 12 meses.

Los niveles de CTx-II y MMP-3 en suero tuvieron mayor sensibilidad en comparación con los niveles urinarios, lo que podría deberse a que la concentración en suero refleje mejor el comportamiento del biomarcador.^{42,47} Sin embargo, se ha visto mayor correlación de CTx-II urinario con progresión de OA⁴¹ y se ha reportado mayor estabilidad de CTx-II urinario con ciclos frecuentes de congelación descongelación de la muestra, con obtención de biomarcador de 100%.⁴⁵

Se ha detectado una clara asociación en niveles elevados de CTx-II urinario y el grado radiográfico de OA en rodilla según la clasificación de Kellgren y Lawrence (KL).^{49,50} Encontrándose el doble de CTx-II en pacientes con grado 4 de KL en comparación con el grado 0. Así como mayor magnitud de elevación en mujeres con grado 4 de KL,⁴⁹ lo cual se ve reflejado en el presente estudio, ya que pacientes con lesión meniscal y mayor tiempo de lesión, el MMP-3 se relacionó con mayores niveles en suero y orina.

En los niveles de ambos biomarcadores con las escalas de valoración funcional solo se encontró correlación en el KOOS actividades de vida diaria, y en MMP-3 con Lysholm y KOOS deporte. En estudios previos se ha evaluado varias escalas con los biomarcadores encontrándose correlación con el nivel de biomarcador y las escalas funcionales; como en WOMAC y KOOS.^{47,49}

Conclusiones.

La lesión de LCA es uno de los factores importantes en el desarrollo de OA, por lo cual se debe de tener un método diagnóstico adecuado que identifique de manera oportuna el inicio de la OA y progresión de la misma.

Sin embargo, para la población con OA, el potencial uso de biomarcadores moleculares de la renovación del cartílago como predictores de recambio del cartílago y el posible desarrollo futuro de la OA se desconoce.

Son necesarios más estudios longitudinales con grandes cohortes para así determinar su potencial uso y beneficios como herramienta pronóstica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Lohmander LS., et al: the long-term consequence of anterior cruciate ligament and meniscus injuries: osteoarthritis. *Am J Sports Med* 2007; 35:1756-69.
2. Gelber AC., et al: Joint injury in young adults and risk for subsequent knee and hip osteoarthritis. *Ann Intern Med* 2000, 133:321-8.
3. Brown TD, et al: Posttraumatic osteoarthritis: a first estimate of incidence, prevalence, and burden of disease. *Journal Orthop Trauma* 2006; 20:739-44.
4. Fox A, Bedi A, and Rodeo S. Cartilago The Basic Science of Articular Cartilage: Structure, Composition, and Function. *Sports Health: A Multidisciplinary Approach*. 2009; 1(6): 461-68.
5. SAIH, Servicio de Sistemas del Instituto Nacional de Rehabilitación 2011.
6. Frobell RB., et al: The acutely ACL injured knee assessed by MRI: are large volume traumatic bone marrow lesions a sign of severe compression injury? *Osteoarthritis Cartilage* 2008, 16: 829-836.
7. Rouviere H. Delmas A. Anatomía humana. Descriptiva, topografica y funcional. Edit. Masson, 11a ED, 2005.
8. Carnajo M, Palomino M. Anatomía descriptiva meniscal de la rodilla, mediante el estudio con resonancia magnetica. UCAM. 2002: 32-36
9. Girgis FG, Marshall JL, Al Monajem ARS. The Cruciate Ligaments of the Knee Joint. Anatomical, Functional and Experimental Analysis. *Clin Orthop* 106; 1975: 216-31.
10. Andriacchi TP, Mundermann A, Smith RL, Alexander EJ, Dyrby CO, Koo S. A framework for the in vivo pathomechanics of osteoarthritis of the knee. *Ann Biomed Eng* 2004; 32:447-57.
11. Leong D., I Gu X., Li Y., Y Lee, et al.; Matrix Metalloproteinase-3 In Articular Cartilage Is Upregulated by Joint Immobilization and Suppressed by Passive Joint Motion. *Matrix Biol*. 2010 Jun; 29(5): 420–426.
12. Tetlow L.C. Woolley D.J. Adlam Matrix metalloproteinase and proinflammatory cytokine production by chondrocytes of human osteoarthritic cartilage: associations with degenerative changes. *Arthritis & Rheumatism*. Vol. 44, no. 3, march 2001, pp 585–594.
13. Andrew D. Pearle, MD*, Russell F. Warren, MD, Scott A. Rodeo, MD Basic Science of Articular Cartilage and Osteoarthritis. *Clin Sports Med* 2005; 24:1-12.
14. Irie K., Uchiyama, E., Iwaso, H.; Intraarticular inflammatory cytokines in acute anterior cruciate ligament injured knee. *Knee* 2003, 10: 93-96.
15. Lohmander LS, et al: Temporal patterns of stromelysin-1, tissue inhibitor, and proteoglycan fragments in human knee joint fluid after injury to the cruciate ligament or meniscus. *J Orthop Res* 1994, 12:21-28
16. Lohmander LS, et al: Release of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) into joint fluid after knee injury and in osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 1994, 53:823-27.

17. Ratcliffe A, et al: Increased release of matrix components from articular cartilage in experimental canine osteoarthritis. *J Orthop Res* 1992, 10:350-358.
18. Garnero P, Ayral X, Rousseau JC, Christgau S, Sandell LJ, Dougados M, et al. Uncoupling of type II collagen synthesis and degradation predicts progression of joint damage in patients with knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46:2613-24
19. Garnero P, Piperno M, Gineyts E, Christgau S, Delmas PD, Vignon. Cross sectional evaluation of biochemical markers of bone, cartilage, and synovial tissue metabolism in patients with knee osteoarthritis: relations with disease activity and joint damage. *Ann Rheum Dis* 2001; 60:619-26
20. Catterral J, Stabler T, Flannery C, Kraus V. Changes in serum and synovial fluid biomarkers after acute injury, *Arthritis researchs & therapy*; 2010; 12; 2-9.
21. Loyo Soriano Luis Eduardo (2014). "Validez y Confiabilidad de la escala de Lysholm, IKDC subjetivo, KOOS, Marx y Tegner en pacientes de habla hispana con lesiones de rodilla en la Ciudad de México". (Trabajo de grado de especialización). Universidad Nacional Autónoma de México, Coordinación General de Estudios de Posgrado, UNAM.
22. Arcuri, Francisco, Abalo Eduardo, Barclay Fernando. Uso de escores para evaluación de resultados en cirugía de ligamento cruzado anterior. *Artroscopia* 2010. 3:241-247.
23. Zapien Soto A., Torres Méndez JL., Calixto García A., Guillen Alcala MA. Valoración funcional de los diferentes tipos de plastia de ligamento cruzado anterior empleados en el servicio de artroscopia del Hospital General Xoco. *Acta Ortopédica Mexicana*, 2011; 25(3): May-Jun: 161-166.
24. Vaquero, J., Longo, U. G., Forriol, F., Martinelli, N., Vethencourt, R., & Denaro, V. (2012). Reliability, validity and responsiveness of the Spanish version of the Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS) in patients with chondral lesion of the knee. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*, 22(1), 104-108.
25. Arellano Cuautle, Karina. (2019). "Evaluación de las propiedades psicométricas de la versión en español del International Knee Documentation Committee Subjective Knee Evaluation Form (IKDC) y del KNEE Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS) para la evaluación de los sujetos con osteoartritis primaria de la rodilla". (Trabajo de grado de especialización). Universidad Nacional Autónoma de México, Coordinación General de Estudios de Posgrado, UNAM.
26. Arroyo-Morales M, Martín-Alguacil J, Lozano-Lozano M, Cuesta-Vargas AI, Fernández-Fernández AJ, González JA, et al. (2019) The Lysholm score: Cross cultural validation and evaluation of psychometric properties of the Spanish version. *PLoS ONE* 14(8).
27. Collins, N. J., Misra, D., Felson, D. T., Crossley, K. M., & Roos, E. M. (2011). Measures of knee function: International Knee Documentation

- Committee (IKDC) Subjective Knee Evaluation Form, Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS), Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score Physical Function Short Form (KOOS-PS), Knee Ou. Arthritis Care & Research, 63(S11), S208–S228.
28. Peña Omar R, Gómez Gelvez A., Torres Liliana P., García G. Luis. Adaptación transcultural al Español y Validación de la Escala de Lysholm para evaluar la funcionalidad de la rodilla. (2021). Sociedad Colombiana de Ortopedia y Traumatología. 35, 223-228.
 29. Irrgang JJ, Anderson AF, Boland AL, Harner CD, Kurosaka M, Neyret P, et al. Development and validation of the International Knee Documentation Committee subjective knee form. *Am J Sports Med.* 2001; 29:600–13.
 30. Roos EM, Roos HP, Lohmander LS, Ekdahl C, Beynnon BD. Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS): development of a self-administered outcome measure. *J Orthop Sports Phys Ther.* 1998; 28:88–96.
 31. Lysholm J, Gillquist J. Evaluation of knee ligament surgery results with special emphasis on use of a scoring scale. *Am J Sports Med.* 1982; 10:150–4.
 32. Smith HJ, Richardson JB, Tennant A. Modification and validation of the Lysholm Knee Scale to assess articular cartilage damage. *Osteoarthritis Cartilage.* 2009; 17:53–8.
 33. Tegner Y, Lysholm J. Rating systems in the evaluation of knee ligament injuries. *Clin Orthop Relat Res.* 1985; 198:43–9.
 34. Briggs KK, Lysholm J, Tegner Y, Rodkey WG, Kocher MS, Steadman JR. The reliability, validity, and responsiveness of the Lysholm Score and Tegner Activity Scale for anterior cruciate ligament injuries of the knee:25 years later. *Am J Sports Med.* 2009; 37:890–7.
 35. Wang P, Song J, Qian D. CTX-II and YKL-40 in early diagnosis and treatment evaluation of osteoarthritis. *Exp Ther Med.* 2019 Jan;17(1):423-431.
 36. Wang, LJ., Zeng, N., Yan, ZP. *et al.* Post-traumatic osteoarthritis following ACL injury. *Arthritis Res Ther* 22, 57 (2020).
 37. Nicolini AP, Mansur NSB, Dreyfuss JL, Ejnisman B, Cohen M, Astur DC. Evaluation of the CTX-II Biomarker in Patients with Anterior Cruciate Ligament Tear: Pilot Study. *Rev Bras Ortop (Sao Paulo).* 2021 Jun;56(3):326-332.
 38. Bisciotti GN, Chamari K, Cena E, Bisciotti A, Bisciotti A, Corsini A, Volpi P. Anterior cruciate ligament injury risk factors in football. *J Sports Med Phys Fitness.* 2019 Oct;59(10):1724-1738.
 39. Alentorn-Geli E, Myer GD, Silvers HJ, Samitier G, Romero D, Lázaro-Haro C, Cugat R. Prevention of non-contact anterior cruciate ligament injuries in soccer players. Part 1: Mechanisms of injury and underlying risk factors. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2009 Jul;17(7):705-29.
 40. Zago M, David S, Bertozzi F, Brunetti C, Gatti A, Salaorni F, Tarabini M, Galvani C, Sforza C, Galli M. Fatigue Induced by Repeated Changes of Direction in Elite Female Football (Soccer) Players: Impact on Lower Limb Biomechanics and

- Implications for ACL Injury Prevention. *Front Bioeng Biotechnol.* 2021 Jul 5;9:666841.
41. Cinque ME, Dornan GJ, Chahla J, Moatshe G, LaPrade RF. High Rates of Osteoarthritis Develop After Anterior Cruciate Ligament Surgery: An Analysis of 4108 Patients. *Am J Sports Med.* 2018 Jul;46(8):2011-2019.
 42. Alonso B, Bravo B, Mediavilla L, Gortazar AR, Forriol F, Vaquero J, Guisasola MC. Osteoarthritis-related biomarkers profile in chronic anterior cruciate ligament injured knee. *Knee.* 2020 Jan;27(1):51-60.
 43. Poulsen E, Goncalves GH, Bricca A, Roos EM, Thorlund JB, Juhl CB. Knee osteoarthritis risk is increased 4-6 fold after knee injury - a systematic review and meta-analysis. *Br J Sports Med.* 2019 Dec;53(23):1454-1463.
 44. Leung YY, Haaland B, Huebner JL, Wong SBS, Tjai M, Wang C, Chowbay B, Thumboo J, Chakraborty B, Tan MH, Kraus VB. Colchicine lack of effectiveness in symptom and inflammation modification in knee osteoarthritis (COLKOA): a randomized controlled trial. *Osteoarthritis Cartilage.* 2018 May;26(5):631-640.
 45. Christgau S, Garnerio P, Fledelius C, Moniz C, Ensig M, Gineyts E, Rosenquist C, Qvist P. Collagen type II C-telopeptide fragments as an index of cartilage degradation. *Bone.* 2001 Sep;29(3):209-15.
 46. Boeth H, Raffalt PC, MacMahon A, Poole AR, Eckstein F, Wirth W, Buttgerit F, Önerfjord P, Lorenzo P, Klint C, Pramhed A, Duda GN. Association between changes in molecular biomarkers of cartilage matrix turnover and changes in knee articular cartilage: a longitudinal pilot study. *J Exp Orthop.* 2019 May 3;6(1):19.
 47. García-Alvarado FJ, González-Martínez MDR, Jaramillo-Rodríguez Y, Delgado-Aguirre HA. Increased Urinary Concentration of C-Terminal Telopeptide of Type II Collagen and Pain by Radiographic Grade in Women with Knee Osteoarthritis in Northeastern Mexico: A Cross-Sectional Study. *Biores Open Access.* 2020 Feb 12;9(1):7-12
 48. Hagemans FJA, Larsson S, Reijman M, Frobell RB, Struglics A, Meuffels DE. An Anterior Cruciate Ligament Rupture Increases Levels of Urine N-terminal Cross-linked Telopeptide of Type I Collagen, Urine C-terminal Cross-linked Telopeptide of Type II Collagen, Serum Aggrecan ARGS Neopeptide, and Serum Tumor Necrosis Factor- α . *Am J Sports Med.* 2021 Nov;49(13):3534-3543.
 49. Hao HQ, Zhang JF, He QQ, Wang Z. Cartilage oligomeric matrix protein, C-terminal cross-linking telopeptide of type II collagen, and matrix metalloproteinase-3 as biomarkers for knee and hip osteoarthritis (OA) diagnosis: a systematic review and meta-analysis. *Osteoarthritis Cartilage.* 2019 May;27(5):726-736.
 50. Bihlet AR, Byrjalsen I, Bay-Jensen AC, Andersen JR, Christiansen C, Riis BJ, Karsdal MA. Associations between biomarkers of bone and cartilage turnover, gender, pain categories and radiographic severity in knee osteoarthritis. *Arthritis Res Ther.* 2019 Sep 3;21(1):203.