

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Cirugía



TESIS DOCTORAL

**Integración tendinosa de plastias autólogas en
túneles de diferente calibre: estudio experimental en
ovejas**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Ricardo Sánchez Hidalgo

Director

Francisco Forriol Campos

Madrid, 2011

ISBN: 978-84-695-0768-1

© Ricardo Sánchez Hidalgo, 2011

**INTEGRACIÓN TENDINOSA DE PLASTIAS
AUTÓLOGAS EN TÚNELES DE DIFERENTE
CALIBRE. ESTUDIO EXPERIMENTAL EN OVEJAS**

TESIS DOCTORAL

RICARDO SÁNCHEZ HIDALGO

Licenciado en Medicina y Cirugía

Director

Prof. Francisco Forriol Campos

Universidad Complutense de Madrid

Facultad de Medicina

Departamento de Cirugía

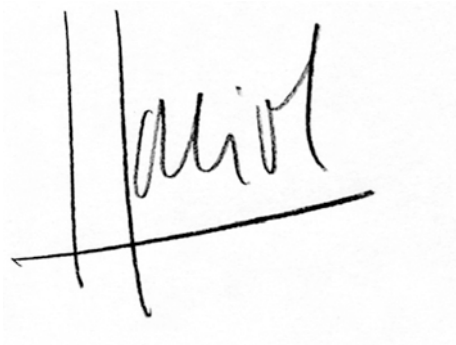
2011

D. Francisco Forriol Campos, especialista en Traumatología y Cirugía Ortopédica, Doctor en Medicina y Cirugía y Catedrático de Traumatología y Cirugía Ortopédica, en la Facultad de Medicina, Campus de Montepríncipe, Universidad San Pablo CEU,

CERTIFICA

Que: D Ricardo Sánchez Hidalgo, Licenciad en Medicina por la Universidad Autónoma de Madrid, ha realizado la presente Tesis Doctoral, titulada “INTEGRACIÓN TENDINOSA DE PLASTIAS AUTÓLOGAS EN TÚNELES DE DIFERENTE CALIBRE. ESTUDIO EXPERIMENTAL EN OVEJAS” en el Hospital de Majadahonda de la Mutua de Accidentes de Trabajo de la Seguridad Social, nº 61,, bajo mi tutela y dirección,

Y para que conste, firmo la presente en Boadilla del Monte, a 13 de marzo de 2011

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Forriol', written over a horizontal line. The signature is stylized and cursive.

Francisco Forriol Campos

a mis padres

AGRADECIMIENTOS

Al profesor Francisco Forriol Campos, por su dirección y apoyo en todo momento para la realización de esta tesis y por dejarme participar de su proyecto FIS, del cual esta tesis doctoral forma parte

Al área de investigación del Hospital FREMAP de Majadahonda, por su ayuda y generosidad en la realización de las pruebas en el laboratorio de biología molecular y cultivos celulares. A Isabel Zapero y Raúl Esparza por facilitarme tanto el trabajo. No me olvido de Elsa, veterinaria que consiguió con mi tesis un manejo excepcional de los animales. Mis horarios se adaptaron a los suyos sin pegas y sin protestas. Este trabajo trajeron momentos inolvidables que siempre me harán recordar con agrado mis inicios en la investigación experimental. Los primeros pasos en la cirugía experimental me han facilitado mucho mi comienzo con las técnicas quirúrgicas.

A mi tutor, el Dr. Pedro Delgado Serrano, por su interés y dedicación durante los cinco años de mi residencia. A mis compañeros residentes y personal médico del hospital por su empuje durante estos años y por las facilidades que me han dado para dedicarme a este trabajo.

A mis padres, ejemplo para mí. Agradezco su apoyo en todos los proyectos de mi vida. Ellos me han aconsejado y siempre han mirado por mi bien y siempre han fomentado mi formación académica profesional. A mis hermanos y familia, por sus consejos y ánimos para alcanzar lo propuesto.

ÍNDICE

Resumen	8
Introducción	
Estructura del ligamento cruzado anterior	12
Reparación quirúrgica del ligamento cruzado anterior	13
Proceso de integración de una plastia en el túnel óseo	15
Fases de integración de un injerto	20
Hipótesis y objetivos	27
Material y Métodos	
Animales y metodología	30
Cuidados preoperatorios	30
Anestesia	31
Preparación	32
Técnica quirúrgica	33
Cuidados postoperatorios	40
Sacrificio animales	40
Estudios realizados	
Histología	41
Biomecánica	41
Resultados	
Macroscópicos	51
Resultados túneles 5 mm	53
Resultados túneles 7 mm	63
Resultados de biomecánica	75

Discusión	
Modelo experimental	80
Grosor de los túneles en la reparación del LCA	81
Fijación del injerto	83
Reparación e integración del injerto tendinoso	85
Biomecánica de la plastia para la reconstrucción del LCA	90
Integración del injerto en el túnel óseo	96
¿Existe la “ligamentización”?	101
Limitaciones del estudio	104
Conclusiones	105
Bibliografía	107
Anexo I. Aportaciones científicas.	131

RESUMEN

Hipótesis: Un túnel de mayor diámetro que la plastia que lo ocupa facilita la osteolisis por el relleno del espacio entre el injerto y el hueso con el líquido sinovial de la propia articulación, impidiendo la integración osteoligamentaria.

Objetivo: Estudiar la integración osteoligamentaria de una plastia tendinosa en la reparación de un LCA roto con túneles de diferente calibre y la integración biológica o "ligamentización" de la plastia con túneles de diferente diámetro. Analizamos la biomecánica del complejo fémur-plastia-tibia, con túneles de diferente diámetro y distintos tiempos de evolución.

Material y métodos: Estudiamos la integración del LCA, en 41 oveja adultas reproduciendo la lesión de LCA y realizando cirugías según los siguientes grupos: Grupo A, plastia tendinosa autóloga del tendón superficial de la pezuña incluida en un túnel femoral y tibial de 5mm de diámetro. Grupo B, plastia tendinosa autóloga del tendón superficial de la pezuña incluida en un túnel de 7mm de diámetro. Los animales fueron sacrificados a los 3, 6 y 12 meses.

Resultados: En las túneles de 5 mm de diámetro a pesar de la tensión para penetrar la plastia por el túnel y de la ocupación de los túneles por la misma, no se observó integración directa de la plastia con el hueso, ni fibras que uniesen directamente ambas estructuras. Por el contrario en todos los casos se observó un tejido fibroso muy celular y vascular que no consiguió integrar ambas estructuras. En las plastias con túneles de 7 mm no se observó unión directa de la plastia con el túnel óseo, pero se desarrolló tejido fibroso de relleno muy abundante. La plastia presentó una estructura fascicular que se fue acrecentando con el tiempo para permitir la formación de septos y penetración de vasos. Macroscópicamente se observó una reconstrucción de la plastia de LCA que mostraba un aspecto denso, recordando al tendón original. Las plastias de túnel de 7 mm y con mayor tiempo de evolución necesitaban más fuerza de rotura máxima y tenían más elongación que las plastias de túneles de 5 mm.

Conclusión: El estudio histológico muestra que después de un año de evolución el tendón no se transforma en ligamento y que no hay integración de la plastia en los túneles, independientemente del diámetro de éstos. Por lo tanto el sistema de fijación es fundamental para mantener la plastia en su correcta orientación y con su adecuada tensión.

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN

La rotura del ligamento cruzado anterior (LCA) es una lesión frecuente en la actividad deportiva y recreacional. Las rodillas con un LCA deficiente están predispuestas a lesiones y a la aparición de signos degenerativos tempranos. El tratamiento de esta lesión ha despertado mucho interés entre los cirujanos de la rodilla y con las técnicas artroscópicas es, sin lugar a dudas, una de las cirugías más frecuentes. Las técnicas de reconstrucción precisan injertos autólogos, del tercio central del ligamento rotuliano con dos pastillas óseas en sus extremos (H-T-H), del tendón cuadriceps o de los tendones de inserción de los músculos isquiotibiales, especialmente el semitendinoso (ST) y el recto interno (RI). Cada vez más, a pesar de su carencia, se solicitan aloinjertos de H-T-H, de la pata de ganso, del tendón de Aquiles o del músculo tibial anterior.

Prácticamente dos tercios de las lesiones del LCA tienen un origen deportivo afectando por lo tanto a una población joven y activa. Su tratamiento ha cambiado notablemente en las tres últimas décadas decantándose hacia la sustitución del mismo en las personas muy activas para disminuir el riesgo de lesiones meniscales o cartilaginosas secundarias [230]. El mejor conocimiento de la anatomía y la función mecánica de este ligamento, la precisión y escasa morbilidad de las técnicas artroscópicas actuales, así como la rehabilitación acelerada y la presión de los enfermos por mantener su calidad de vida sin limitaciones han impulsado de forma decisiva a la cirugía del LCA.

Las lesiones del LCA tienen una alta prevalencia, alrededor de 0,30/1000 habitantes y año [170]. Esta incidencia es notablemente más alta en los deportes de contacto y los que exigen pivotar sobre la rodilla, como ocurre en el fútbol, baloncesto o en el esquí [230]. En España, en una encuesta efectuada en el año 2001, calculó 16.821 plastias de LCA anuales, lo que representaría una prevalencia de 4 casos por cada 1.000 habitantes al año, si todas las roturas se hubieran operado. Una de cada 5 artroscopias realizadas en nuestro país tendría como objetivo la reconstrucción de un LCA roto [20].

Las mujeres que practican actividades deportivas tienen entre 2 y 8 veces más roturas de LCA que los hombres que practican los mismos deportes. Entre las posibles causas se han señalado las diferencias en el ángulo Q, la morfología de la articulación de la rodilla, las dimensiones pélvicas, el entrenamiento y el estado hormonal durante el ciclo menstrual. También se ha considerado la menor protección que ejercen los músculos sobre los ligamentos de la rodilla [249]. No hay que olvidar

que las mujeres muestran menor rigidez articular de la rodilla en respuesta a las menores magnitudes de torsión que deben soportar en relación a los hombres [210].

Los ligamentos cruzados de la rodilla son los encargados de regular la cinemática articular y los "órganos sensores" que informan de la musculatura periarticular influyendo sobre la posición de las superficies articulares, la dirección y la magnitud de las fuerzas y de forma indirecta, sobre la distribución de las tensiones articulares [17][32][33][87]. Sin embargo, la primera obligación del ligamento cruzado anterior es impedir el desplazamiento anterior de la tibia con relación al fémur y, en menor medida, controlar en carga la laxitud en varo, en valgo y la rotación [6]; de hecho es una estructura estabilizadora en la rodilla de animales con poca inestabilidad rotacional.

Estructura del ligamento cruzado anterior

Por su importancia y para comprender la reparación de un ligamento cruzado se ha estudiado la vascularización de los ligamentos cruzados [6,36,67,95,195]. En un modelo canino, Kobayashi et al [139] vieron que el LCA está rodeado por la sinovial con abundantes vasos. Las ramas penetran en el ligamento y forman una red vascular en su interior. Con el microscopio electrónico observaron que el espacio perivascular alrededor de los vasos intrínsecos comunican a través de las fibras ligamentosas y la membrana sinovial. Las arterias de los ligamentos cruzados proceden de la arteria genicular media que envía cuatro ramas al LCP y una sola al LCA. En la inserción de los ligamentos, los vasos se anastomosan con la red vascular subcortical del fémur y de la tibia, anastomosis muy pequeñas para reparar un ligamento roto. La inserción de los ligamentos cruzados, anterior y posterior, están libres de vasos nutriéndose de los vasos sinoviales que se anastomosan con los vasos del periostio [87][92][93][219].

Hay que comentar, un aspecto que nos parece de gran interés, la diferente capacidad de reparación entre el LCA y el ligamento lateral interno de la rodilla. Se han presentado numerosas teorías, incluyendo la diferencia en la vascularización, localización del ligamento, uno es intrarticular y el otro no, diferentes condiciones mecánicas y diferente respuesta a los fibroblastos que componen el tejido [37][38][136][255]. En conejos, dos semanas después de la lesión el LLI presenta 8 veces más flujo sanguíneo, 6 veces más volumen vascular y mayor cicatriz de reparación

mientras que el LCA no presenta mayor flujo sanguíneo y muestra una atrofia evidente [38][118].

Los fibroblastos del ligamento colateral medial (LLI) de la rodilla sintetizan más colágeno que los del LCA en las mismas condiciones de cultivo [118]; los fibroblastos del LCA tienen mayor tendencia a la apoptosis inducida y menor respuesta al TGF- β y bFGF y muestran menor proliferación que los fibroblastos procedentes del LLI. Además los fibroblastos derivados del MCL demuestran una sensibilidad menor a los mediadores inflamatorios como es el TNFa.

Zimny et al [263-265] identificaron dos tipos de mecano-receptores en el LCA: terminaciones de Ruffini y corpúsculos de Pacini. Los elementos nerviosos constituyen un 1% del ligamento [211]. También se han encontrado terminaciones libres para ofrecer una información exacta de la posición relativa de los huesos en relación a la articulación y a la interacción entre la articulación y los músculos [105]. Los axones, receptores especializados y las terminaciones nerviosas libres constituyen, aproximadamente el 3% del área del tejido sinovial y subsinovial que rodea al LCA. Este porcentaje aumenta en pacientes afectados de gonartrosis lo que establece una relación desconocida entre las terminaciones nerviosas y la función mecánica del ligamento [10].

Los ligamentos de la articulación de la rodilla humana son estructuras compuestas por colágeno distribuido de forma no homogénea [93]. Los fascículos anteriores de todos los ligamentos contienen más colágeno por unidad de volumen que los fascículos posteriores y, además, en los ligamentos cruzados, la porción central contiene más colágeno que la distal o proximal y su densidad es menor en el LCA que en el resto de los ligamentos [172]. El contenido de colágeno tipo I es similar en ambos ligamentos cruzados mientras que se han encontrado diferencias en el contenido del colágeno tipo III [8]. También se han encontrado diferencias ultraestructurales entre el LCA masculino y femenino que podrían explicar la mayor frecuencia relativa de roturas en la mujer [108].

El LCA normal está formado por, al menos, dos fascículos, antero-medial (AM) y postero-lateral (PL). Los estudios biomecánicos han demostrado que cada uno de ellos tiene una función determinada en el movimiento de flexo-extensión de la rodilla [93]. Según Kurosawa et al [141] el fascículo AM se tensa en extensión completa, está relajado entre 20° y 60° de flexión y, de nuevo, se tensa a partir de los 90° de flexión. El PL se tensa más que el AM en la extensión completa y se relaja

progresivamente a lo largo de la flexión, incluso sobrepasados los 90°. La sección del fascículo PL aumenta la traslación anterior a 30° y la rotación interna, entre 0° y 30°, provocando un aumento de la movilidad del cóndilo tibial externo.

Reparación quirúrgica del ligamento cruzado anterior

Granán et al [101] analizaron la relación de padecer una lesión de LCA asociada a lesiones de cartílago y de menisco. Revisaron 3.475 pacientes, incluidos en el registro nacional noruego, intervenidos de una reparación primaria del LCA, entre 2004 y 2006. Un 26% presentaban asociadas lesiones de cartílago, un 47% roturas meniscales y el 15% restante ambas. Además, calcularon que una lesión de cartílago en una rodilla adulta aumenta un 1% cada mes que transcurre desde la rotura del ligamento cruzado anterior hasta el día de la cirugía y que las lesiones de cartílago son dos veces más frecuentes cuando hay una rotura meniscal y viceversa.

Una rotura del estabilizador primario de la traslación tibial anterior implica una laxitud inmediata de la rodilla que puede ser sintomática así como un alto riesgo de lesiones intrarticulares secundarias que pueden incluso acabar en una gonartrosis con el paso del tiempo [100]. Ningún trabajo ha seguido prospectivamente dos cohortes similares de pacientes, con y sin tratamiento, pues no es fácil dejar a su evolución natural a un paciente con una rotura de LCA, siendo la mayoría tratados al menos de forma conservadora mediante fisioterapia y ortesis. Noyes et al [185] intentaron acercarse a la historia natural de esta lesión y encontraron que el 82% de los pacientes lesionados y sin tratamiento volvieron a practicar algún deporte tras la rotura, aunque el 51% tenían un fallo articular serio en el primer año y tan sólo el 35% siguieron practicando deporte a los 5 años. Con un seguimiento medio de 11 años, el 44% de los pacientes mostraron signos radiológicos de artrosis.

Por otro lado, son numerosos los trabajos que señalan la aparición de lesiones menisco-ligamentosas con una rodilla inestable. Se ha calculado que después del primer año aparecen un 40% de lesiones meniscales, generalmente del menisco interno. Esta cifra aumenta hasta un 60%, a los cinco años, y 80%, a los 10 años [145]. Además, el edema óseo está presente en más del 90% de las RMN realizadas inicialmente a pacientes con rotura de LCA y estudios artroscópicos han demostrado el reblandecimiento y la degeneración condral y el posterior adelgazamiento del cartílago en estas zonas [97]. Pero es la existencia de lesiones meniscales y sobre todo cartilaginosas en el momento de la intervención y no el número de años

transcurridos lo que repercute negativamente sobre los resultados, tanto objetivos como subjetivos, de la reconstrucción del LCA [212].

La reparación de las roturas del ligamento cruzado anterior con una plastia de doble fascículo es un concepto actual y sugerente que, sin embargo, no ha demostrado mejores resultados funcionales que la plastia monofascicular [48][152][157][262]. Esto se debe, en parte, a la falta de estudios comparativos con el diseño adecuado y, además, para resolver esta cuestión es necesario realizar un estudio prospectivo, aleatorio y controlado, sin olvidar disponer de una muestra adecuada [157].

Aunque las variables objetivas son importantes, las variables subjetivas son, para el paciente, de mayor interés pues se asocian con su grado de satisfacción. Por ello se debe enfatizar en la evaluación de sus síntomas y su función, especialmente los que hacen referencia a la rigidez, la marcha, la inflamación y la posible sintomatología de la articulación fémoro-rotuliana [137][220][205].

El riesgo para desarrollar cambios degenerativos articulares con las técnicas de fascículo único y en ausencia de una lesión meniscal son bajas [196]. Entre 128 pacientes a los que se reparó su LCA con un fascículo único, después de 10 años de evolución, solo tres desarrollaron cambios degenerativos moderados en el cartílago articular aunque algo más del 50% (IKCD grado C) mostraron una disminución del espacio articular [196].

Las inserciones de los dos fascículos del LCA es un aspecto a tener en cuenta para conseguir una correcta reconstrucción anatómica. Doi et al [70], en 31 cadáveres calcularon el porcentaje sagital de la localización de la inserción de cada uno de los fascículos calculado desde el borde anterior de la tibia, en dirección ántero-posterior. El borde anterior del LCA se encuentra en el 25%, el centro del fascículo AM en el 34,6%, el centro del fascículo PL en el 38,4%, el borde posterior del LCA en el 50,2%. Takashi et al [225] midieron que la distancia sagital entre el centro de las inserciones tibiales de los fascículos AM y PL desde el borde anterior del cartílago articular tibial tiene valores medios de 13 mm y 14,7 mm respectivamente.

La posición incorrecta de los túneles, tibial o femoral, es la causa más frecuente de complicaciones técnicas en las plastias de LCA con fascículo único [94]. No está de más pensar que realizando cuatro túneles, en el caso de las plastias bifasciculares, aumente el porcentaje de fallos técnicos. Hasta el momento ningún

estudio ha tenido el suficiente poder estadístico para refutar esta teoría y, por supuesto, la plastia a doble fascículo sería técnicamente más difícil si hubiese que realizar una cirugía de revisión [77-81][107][148].

Proceso de integración de la plastia en el túnel óseo

Los estudios experimentales han demostrado que el potencial de reparación del LCA es muy pobre por lo que es necesaria, siempre, una intervención quirúrgica que restaure la estabilidad de la rodilla [26-28][97]. Pero todas las cirugías de reparación de los ligamentos intraarticulares de la rodilla utilizan injertos de diferente tipo que requieren la reparación biológica gracias a la estabilidad mecánica. De aquí que es necesaria una buena integración del injerto con la zona receptora para conseguir una penetración de los vasos que terminen sustituyendo la plastia por un nuevo ligamento del propio paciente.

Son muchas las variables que intervienen en dicho proceso desde la colocación de la plastia, hasta los tipos de anclajes utilizados. Algunas de estas variables las conocemos otras, por el contrario, nos son todavía desconocidas. Un aspecto que nos interesa es conocer la influencia de la relación de los diámetros del túnel y de la propia plastia para ver como influye en el proceso de reparación, tema poco estudiado en la literatura. No podemos olvidar, especialmente en las plastias de los tendones flexores de la rodilla, que la unión tendón de la plastia y el hueso del paciente, es el punto más débil y por donde se producirán la mayoría de las roturas en los momentos iniciales después de la cirugía [24][101][106].

No es de extrañar que se hayan introducido técnicas para acelerar este proceso de integración y se haya probado en los años más recientes con factores de crecimiento BMP (proteínas óseas morfogénicas), FGF (fibroblast growth factor) y TGF- β s (transforming growth factor) [16][69][136][165][166][202][221][253] para mejorar la maduración de la plastia y el crecimiento del hueso en el túnel o de la integración en los injertos H-T-H aunque los efectos colaterales no son conocidos [169][208][229][235][236].

Los tejidos vivos y los órganos son "dinámicos", cambian sus propiedades mecánicas y estructura, en respuesta a las alteraciones de tensión como un fenómeno de su adaptación funcional y buscando una actividad óptima. Este modelo se conoce como 'proceso de remodelación'. Los tendones y ligamentos tienen la capacidad de adaptarse a nuevas condiciones de trabajo en respuesta a los cambios

de tensión y movimiento dentro de unas condiciones de trabajo adecuadas [9][34][35]. Amiel et al [9] denominaron "ligamentación" a la adaptación funcional que tiene lugar en un injerto tendinoso, después de 30 semanas, para convertirse en el ligamento al que sustituye.

Amiel et al [8][9] definieron el proceso de integración de la plastia como "ligamentización", el proceso por el cual un tendón se transforma en un ligamento estabilizador con la misma forma que el LCA, siguiendo la conocida "ley de la adaptación funcional" establecida por Roux, a finales del siglo XIX. El trabajo de Amiel et al [8][9] demostraron la transformación del ligamento rotuliano en una estructura muy similar, en forma y función, a la del LCA. Establecieron que dicho proceso seguía diferentes fases, una inicial con necrosis central de la plastia e hipocelularidad sin detectarse revascularización del injerto, seguida por una fase de proliferación, el periodo de mayor actividad remodeladora y revascularización y, por último, la llamada fase de "ligamentización", un proceso de transformación no una regeneración o restauración del LCA original.

En el trabajo de Amie et al [9] también se reconoce una reparación combinada entre la remodelación intraarticular de la plastia y una reparación intraósea de la incorporación del injerto en los túneles óseos labrados. Este es un aspecto importante no siempre tenido en cuenta. En la integración de una plastia hay dos procesos bien diferenciados, la remodelación del injerto y la integración del injerto en los túneles óseos. Evidentemente un proceso diferente según utilicemos un injerto H-T-H o directamente un tendón sin pastillas óseas en sus extremos óseos.

El aloinjerto de ligamento rotuliano, utilizado para la reconstrucción del ligamento cruzado anterior, los fibroblastos están muertos [5][18][55][51] siendo uno de los factores que contribuyen a la disminución de la resistencia mecánica del injerto.

Distintos autores han demostrado que la resistencia de un injerto rotuliano disminuye de forma rápida después de su fijación para aumentar, poco a poco, con el tiempo [34][35][55][181-184], aunque nunca alcanzará su resistencia original [24][42-44][147]. A partir de las dos semanas del implante la debilidad intrínseca de la plastia disminuye [113][201] y se produce un acortamiento de la misma [42][64], a pesar de la revascularización y reestructuración histológica [34][35][121][122].

Se ha dicho que la buena supervivencia de un injerto ligamentoso depende de su revascularización. Johnson et al [127] sospecha que algunos de los trabajos

publicados son erróneos pues en la mayoría se ha tomado una biopsia inapropiada al recoger tejido fibroso reorganizado periligamentoso y no del propio injerto [198] [260]. Efectuó biopsias del injerto y concluyó que este era un compuesto hipovascularizado rodeado por un tejido reactivo muy vascularizado. Es cierto que muchos estudios efectuados por artroscopia [214][216][140][254] se fijan en la vascularización de la cara anterior del injerto sin fijarse en el aporte vascular del propio injerto que está recubierto por la sinovial [115][116].

El espacio tiene una función en el proceso de integración y organización de la interfaz entre el hueso y la plastia. Para mejorar la fijación de la plastia al túnel se ha recomendado que ambos tengan el mismo diámetro [227] aunque, según Yamazaki et al [253], es más importancia la longitud de la plastia que el grosor aunque su estudio tiene poco tiempo de evolución, 6 semanas. Dargel et al [66] concluyeron que se debe hacer un túnel con 1 mm menos de diámetro que la plastia para mejorar la fijación inicial y conseguir un contacto directo a presión.

En la integración de un injerto hay que considerar dos zonas bien diferenciadas, el injerto intraarticular, donde se produce la "ligamentización", y otra extrarticular que se corresponde con la integración en los túneles y que será diferente en el caso de los injertos H-T-H y de los isquiotibiales [209].

Bosch et al [34][35] estudiaron los injertos de ligamento rotuliano con diferentes técnicas, dos años después de su colocación, viendo, después de su implante, una necrosis y degeneración, seguida de un proceso de curación gradual que conlleva la revascularización del injerto, una migración celular y la formación de matriz extracelular. El injerto de ligamento rotuliano no puede reproducir la organización de las fibras de colágeno del ligamento cruzado anterior [34] ni del ligamento cruzado posterior [35]. Las alteraciones degenerativas, con el aumento de colágeno tipo III y la acumulación anormal de glicosaminoglicanos en el autoinjerto coincide con una disminución de las características mecánicas del injerto en comparación con el ligamento control (60% de resistencia y 70% del módulo elástico). Para estos autores no se produce una "ligamentación" sino un proceso con bases muy bien diferenciadas (necrosis, revitalización, formación de colágeno y remodelación) correlacionadas con los cambios en las propiedades mecánicas del injerto.

Por tanto, no es de extrañar que se haya prodigado el uso de factores de crecimiento para acelerar la reparación ligamentosa y tendinosa [245]. Las células encontradas en la reparación del LCA son de origen externo. Junto a la

revascularización y repoblación fibroblástica, en la plastia se requiere un tiempo para su remodelación hasta adquirir características semejantes a las de un LCA normal. Por ello, existen diferencias evidentes entre la reparación intrínseca de un ligamento lesionado y la remodelación de una plastia. Kuroda et al [140] en un modelo canino, vieron que los factores de crecimiento analizados (bFGF, TGF- β , PDGF-AA y PDGF-BB) mostraban una sobreexpresión a las tres semanas. Por su parte, en lesiones parciales de LCA canino, Kondo et al [138] vieron una mayor resistencia en aquellos que fueron tratados con TGF- β , sin observar mejoría ni en dos grupos controles ni tampoco cuando se aplicaba factor plaquetario (PDGF-BB).

En el caso concreto del aloinjerto, el número de células aumenta progresivamente con el tiempo [18], por una proliferación de las células intrínsecas del injerto o por el crecimiento de las células extrínsecas del huésped. Aunque existe cierta controversia, la mayoría de los trabajos sugieren que las células en este tipo de injertos están muertas [18][243] y son sustituidas completamente por las células de la sinovial del huésped. También es posible que un número limitado de las células congeladas y descongeladas del aloinjerto puedan sobrevivir a este proceso dependiendo de los criterios que se sigan para examinar dicha supervivencia como hemos visto en la congelación del cartílago articular [2] y que hay células de los ligamentos congelados que conservan su capacidad de sintetizar colágeno *in vitro* después de una congelación durante 6 semanas a -70° [88][89].

Como material de sustitución, el ligamento rotuliano ofrece claras ventajas desde el punto de vista mecánico frente a otros tendones, como puede ser el del músculo semitendinoso, pues tiene una resistencia mayor y un mejor anclaje por sus inserciones óseas proximal y distal [184]. Por ello, en el banco de tejidos blandos, el ligamento rotuliano junto con el tendón de Aquiles y la fascia lata [217], son los elementos de mayor utilización.

El injerto libre del tercio central del ligamento rotuliano como sustituto del ligamento cruzado anterior implica la colocación de éste en un medio intrarticular, bajo condiciones de carga poco conocidas durante el tiempo de reparación, penetrando en el ligamento necrótico fibroblastos que provienen de la sinovial [AMIEL 86] sabiendo que es imposible conseguir que un ligamento rotuliano restaure la estructura específica de un ligamento cruzado anterior [BOSCHx2].

La reconstrucción del LCA requiere la reparación de un injerto tendinoso en un túnel creado quirúrgicamente. El anclaje firme del injerto en el propio túnel es

fundamental para evitar la debilidad del montaje y permitirá un inicio más temprano de la rehabilitación y la vuelta a la actividad cotidiana. Por eso, Rodeo et al y Martinek et al han defendido el anclaje biológico con BMP2 que mejora la formación de hueso en el túnel. También FGF [136], TGF [221][222][253], PDGF [69][233] y EGF (epidermal growth factor) [166] han mostrado la capacidad de mejorar la proliferación y elaboración de la matriz en ligamentos diseñados por la ingeniería tisular. La VEGF promueve la angiogénesis en la reparación ligamentosa [207]. Rodeo et al [202] sostienen que la reparación de la plastia en el túnel se produce por crecimiento óseo en la interfaz fibrovascular entre el tendón y el hueso. En los estudios histológicos se ha visto que las fibras aparecen 4 semanas después de la cirugía. El tejido madura y se organiza y la continuidad entre las fibras de colágeno y el hueso con fibras de Sharpey se vieron a las 12 semanas y se completaba a las 26 semanas.

La mineralización progresa con un mayor crecimiento de hueso penetrando en el tendón incorporándose la plastia en el hueso que le rodea. La resistencia del tendón y el hueso está en relación con la cantidad de hueso hallada [207].

Hay publicados diferentes artículos sobre la integración de las plastias para la reparación del LCA, especialmente en modelos experimentales [1][30][34][35][51][99][123][126][131][135][151][158][179][180][189][192][193][204][216][228][234][245][246][255].

Fases de la integración del injerto

Como casi todos los tejidos, los ligamentos y tendones responden frente a una lesión con un proceso de inflamación y reparación. La respuesta inflamatoria aguda comprende tres estados: vascular, celular y reparativa, cada uno de los cuales es controlado por complejas interacciones [98].

Centrándonos en el proceso de integración del tendón, en su fase inicial consiste en la repoblación celular, durante los dos primeros meses, con un aumento del número de fibroblastos y actividad de la morfología nuclear durante tres semanas. En los siguientes diez meses, el injerto transcurre de un estado de remodelación rápida con aumento de los fibroblastos y la revascularización con muchas zonas de degeneración y disminución del porcentaje de fibras de colágeno maduras. La tercera fase es la maduración, tiene lugar durante los siguientes dos años, y se caracteriza por una disminución suave en el número de núcleos y en la

maduración de la matriz de colágeno. A los tres años el injerto es un ligamento según criterios histológicos.

Fase inicial

Comprende desde la cirugía hasta la 4ª semana. Es el periodo crítico muy relacionado con los detalles de la técnica utilizados, tipo de injerto, tamaño y disposición de los túneles, técnica, anclaje y fijación de la plastia, tipo de paciente y actividad del mismo, etc. Pero centrándonos en los aspectos biológicos [9][18][34][135][213] es un periodo marcado por el aumento de la necrosis, especialmente, en el centro del injerto y su hipocelularidad. Los cambios celulares ultraestructurales en las mitocondrias, dilatación del retículo endoplásmico y deposición intracitoplásmica de los lípidos así como la inflamación y el aumento del área de sección de la plastia [35]. Al mismo tiempo no se produce una revascularización del propio ligamento [18][135][216][255]. La necrosis del injerto produce una liberación de citoquinas, como son la TNF-a, IL-1b, IL-6, así como las citoquinas que disparan una cascada de expresiones de factores de crecimiento que conllevan una migración y proliferación celular así como la síntesis de la matriz extracelular y revascularización [131][140].

La fase de proliferación se caracteriza por mayor actividad celular y cambios en la matriz extracelular que discurren paralelas con una pérdida de las propiedades mecánicas durante todo el proceso de reparación. Desde el inicio de la proliferación, en el periodo de reparación inicial, hay una transición progresiva entre las dos fases, aunque los mayores cambios tienen lugar entre la 4ª y la 12ª semana después de la cirugía. Aparecen aglomeraciones de células en la periferia del injerto sobre la 6ª semana con grandes zonas acelulares en el centro del injerto. Estas regiones hipercelulares son MSC [218] y fibroblastos activados [140] que secretan factores de crecimiento para mantener la remodelación del injerto. El pico de producción de estos factores es entre la 3ª y 6ª semana y cesa completamente a partir de la 12ª semana.

La respuesta vascular inicial se produce de forma inmediata y se continúa durante 2 o 3 días. Tras un periodo inicial de vasoconstricción aparece una dilatación de los vasos alrededor del área lesionada. En poco tiempo se produce la liberación de neutrófilos polimórficos, leucocitos y linfocitos con la liberación de componentes intravasculares no celulares que inician la inducción en cascada de fibrina,

complementos y quinina. El aumento de la permeabilidad también libera a las plaquetas.

A las 24 horas de la lesión ya se encuentran monocitos, incrementado su número alrededor del quinto día y son los encargados de eliminar detritus celulares y colágeno lesionado. Con la edad, los macrófagos pierden su habilidad para identificar los elementos lesionados y atacan igualmente al colágeno no lesionado prolongándose de esta forma el proceso de reparación [59], estimulando o inhibiendo el crecimiento de los fibroblastos. Simultáneamente, se forman nuevos vasos y hacia el final de la primera fase se observan los primeros fibroblastos procedentes de los tejidos circundantes (paratenon, epitenon y endotenon) que se encargan de mantener las condiciones correctas de oxigenación tisular [161].

La segunda fase comienza 4 o 5 días después de la cirugía, aumentando el número de fibroblastos progresivamente. La síntesis de colágeno extracelular y mucopolisacáridos, en un ligamento lesionado, alcanzan su pico hacia el día 21 después de la lesión. La fibronectina aumenta la unión de las fibras de colágeno entre sí y con las fibras musculares [98]. Algunos autores han descrito la presencia de colágeno tipo III y I después de la lesión en contraste con la predominancia del tipo I en los ligamentos no lesionados [228]. Durante la remodelación del injerto la plastia pierde resistencia mientras se reorganiza estructuralmente. Las propiedades mecánicas caen considerablemente entre la semana 6 y 8 después de su implantación [9][34][88][129][199]209][246] aunque luego se produce un aumento de la sección de la plastia (hasta un 185%) que se asocia con un aumento de la resistencia [129]. Las solicitaciones mecánicas en una plastia afectan al proceso de remodelación [135]. En ausencia de estímulos mecánicos el colágeno neoformado se deposita de forma aleatoria. Por el contrario, cuando comienza la actividad, las fibras de colágeno se disponen paralelas al eje principal de las solicitaciones a tensión.

El proceso de la remodelación comienza entre la 1ª y la 2ª semana cuando se disponen numerosas células en la periferia del injerto [34][135]. Su intensidad continua aumentando con la mayor actividad remodeladora durante la fase de remodelación entre la 4ª y la 10ª semanas.

Las células originales del injerto autólogo acaban desapareciendo entre la 2ª y la 4ª semana [135][255] y cabe sospechar que la fuente de las nuevas células es el líquido sinovial, el paquete de Hoffa y el tejido adiposo articular, los restos del LCA

roto o de la médula ósea, especialmente al efectuar los túneles. Por eso, Arnoczky et al [18] mantienen que hay que preservar el muñón del LCA y el paquete adiposo de Hoffa es beneficioso, especialmente en la fase inicial. Después se produce una distribución de las células más homogénea por la plastia. El número aumenta pero es inferior al de un LCA original [209][246].

Un número mayor de fibroblastos específicos, llamados miofibroblastos aparecen en esta fase de la reparación [232][245] que tienen la capacidad de ejercer tensión alrededor de la célula y en la matriz extracelular. En el LCA intacto pueden ser los responsables para la estructura ondulada de las fibras de colágeno [175]. Estos fibroblastos contráctiles se expresan progresivamente en la plastia durante los tres primeros meses después de la cirugía [161][209][246], por lo que se les considera los responsables de restaurar la tensión que se requiere para el proceso de "ligamentización".

Al mismo tiempo que aumenta la proliferación celular comienza una intensa revascularización de la plastia, concretamente a partir de la 4ª semana [18][54][209][232][245]. Yoshikawa et al [255] vieron una sobreexpresión de VEGF alrededor de las 2 a 3 semanas después de la reconstrucción que produce la propia necrosis que conlleva una hipoxia por falta de vasos en la plastia al inicio de la fase de reparación. Sin embargo, no encuentran una hipervascularización antes de las 4 - 8 semanas. Por su parte, Petersen et al [194] y Unterhauser et al [232] vieron que el proceso de revascularización progresa desde la periferia de la plastia hacia el interior al final de la fase de proliferación alrededor de la semana 12. La densidad vascular vuelve a la normalidad, más tarde, en la fase de ligamentización, aproximadamente hacia los 6 meses [194][232]. Sin embargo, no está clara la relación de vascularización y reparación del ligamento.

La sobreexpresión de la revascularización conlleva una infiltración celular y expresión de fibroblastos durante la fase de proliferación pero esto también induce un deterioro de las propiedades mecánicas de la plastia [255].

Otros autores relacionan el aumento de vasos [246] y la infiltración extracelular [228] con la disminución de las propiedades mecánicas de la plastia. Estos hallazgos avalan otros muchos trabajos que encuentran que las propiedades mecánicas son mínimas en la fase de proliferación del injerto, aproximadamente entre la 6ª y 8ª semanas [24][30][99][121][192][202][209][215][229][245][258].

La pérdida de la orientación y ondulación de las fibras de colágeno que reducen las propiedades mecánicas de la plastia y no será hasta la ligamentización cuando se restauren lentamente [9][121][209][228]. Al mismo tiempo disminuye la densidad de fibras de colágeno que es seguida por un aumento de la síntesis de colágeno [222] y la vuelta a los valores normales del LCA intacto, a las 12 semanas [245]. Sin embargo, durante la restauración de la densidad de las fibras de colágeno se pueden detectar fibras de mayor diámetro con otras de diámetro pequeño [123][135][231][245].

Mientras en la fase inicial, entre la 2ª y 4ª semana, el inconveniente para la integración del injerto es su poca resistencia [99][101][192][245]. La desintegración de las fibras de colágeno y su orientación se observa, lo más pronto, tres semanas después de operación [35][99]. El injerto presenta una pérdida lenta de sus propiedades mecánicas en la fase inicial que dura hasta la 6ª semana [35][192][216].

Es un proceso de debilitamiento de la plastia hasta la 6ª semana que por otra parte mejora la integración del injerto en la plastia. Este debilitamiento se acompaña de alteraciones del injerto que puede estar relacionado con la falta de movilidad inicial [228][189].

La fase final del proceso de reparación está marcado por una disminución de células y vasos. Algunas células inflamatorias y células gigantes permanecen en el denso entramado avascular de colágeno. El tejido está activo y el colágeno es sustituido de forma continua. Según Kleiner et al, [135] la repoblación y la proliferación celular así como la producción de colágeno en el injerto del ligamento cruzado anterior se produce antes de la llegada de los vasos, lo que hace que el injerto ligamentoso no necesite de un periodo de hipervascularización y su viabilidad dependerá más de la difusión sinovial que de los vasos del propio injerto [208].

Aunque en apariencia está inerte, el tejido está activo y el colágeno es sustituido de forma continua [209]. El nuevo colágeno lo producen los fibroblastos mientras que la reabsorción de las fibras originales se realiza por las colagenasas y catepsinas, las cuales se originan de fibroblastos, macrófagos o leucocitos polimórficos. La remodelación de colágeno continua con cambios funcionales que conllevan diferencias en el contenido de proteoglicanos y en la morfología celular y de las fibras de colágeno [199][258].

Además de estos cambios químicos y estructurales, las propiedades mecánicas vuelven a la normalidad cuando las fibras tendinosas iniciales, de pequeño diámetro, son sustituidas por unidades mayores y maduras, con aumento de las uniones moleculares. Sin embargo, no hay que olvidar que la repoblación y la proliferación celular, así como la producción de colágeno, en el injerto del ligamento cruzado anterior se produce [135] antes de su revascularización, lo que hace que el injerto ligamentoso no necesite de una fase de hipervascularización pues su viabilidad dependerá más de la difusión sinovial que de la revascularización intrínseca del propio injerto [116].

Muramatsu et al [174] analizaron la incorporación de plastias autólogas y crioconservadas al mes, a los 4 y a los 6 meses de la cirugía, con RNM y contraste de gadolinio. Vieron que la intensidad del contraste alcanza su pico entre los 4 y los 6 meses en las plastias autólogas, pero continúa creciendo hasta los 18 – 24 meses en los aloinjertos pues tienen una incorporación mucho más lenta.

El remodelado de las plastias utilizadas en la reconstrucción del LCA requiere la migración de células vasculares y fibroblastos derivados de la membrana sinovial, seguido de la formación y maduración de nuevas fibras de colágeno.

Las plastias son ultraestructuralmente diferentes del LCA hasta muchos años después de la intervención. Shino et al [214] observaron, con microscopia electrónica, unas fibras de colágeno muy delgadas al año de la cirugía. Por su parte, Malinin et al [159], vieron histológicamente áreas acelulares y menor densidad de células nucleadas en el injerto. Weiler et al [246] cuantificaron las señales de RNM de los injertos tendinosos para investigar la relación de revascularización y de las propiedades mecánicas, demostrando una correlación negativa entre la intensidad de señal y las propiedades mecánicas.

Bosch et al [34] encontraron un aumento de la expresión de colágeno tipo III en la reparación de la plastia. No se ha visto, en ningún trabajo publicado, una reparación completa y un comportamiento mecánico similar al de los LCA intactos, en modelos animales, dos años después de la operación. Este dato parece contradecir los buenos resultados observados en la clínica. Muchas biopsias analizadas en la clínica han mostrado diferencias significativas entre la actividad remodeladora de las plastias de LCA humano durante los tres primeros meses, y la reparación de la plastia en modelos animales. Las fases de reparación en los modelos animales (necrosis, migración celular y revascularización) también se han

visto en las biopsias de los pacientes [127][204] aunque el proceso de remodelación humano parece ser reducido. Rougraff et al [204] han encontrado células viables intrínsecas en la plastia entre las 3 y las 8 semanas posterior a la cirugía.

Fase de ligamentización

La celularidad vuelve lentamente a los valores normales entre los 3 y los 6 meses después de la intervención [55][232][246]. El fibroblasto típico, ovoide y metabólicamente activo, cambia lentamente a un fibroblasto más inactivo y fusiforme, como se ven en el LCA intacto. La vascularización, a través de la plastia, disminuye y vuelve a los valores del LCA normal y los vasos se distribuyen por todo el LCA, entre las 6 y los 12 meses [18][55][232][246][255], como también se ha visto en modelos con conejo, perro y oveja [9][179][232] con ciertas proteínas extracelulares, como son los glicosaminoglicanos, las proteínas de unión del colágeno, y la plastia sigue un proceso de reparación y de transformación desde los primeros momentos hasta alcanzar la estructura de un LCA normal, como muy pronto, a los 6 meses [9][179]. Sin embargo, aunque hay muchos aspectos que demuestran esta transformación hacia un LCA normal, permanecen muchas diferencias, especialmente en la matriz extracelular.

Las fibras de colágeno empiezan a semejar un LCA entre los 6 y los 12 meses después de la reconstrucción [246] pero la composición heterogénea de las fibras de colágeno de diferentes diámetros del LCA nunca se consigue [1]. El aumento de síntesis del colágeno tipo III durante la fase de proliferación disminuye durante la fase de ligamentización, pero mantiene niveles superiores al del LCA normal durante dos años [34][194]. Ng et al [179] vieron en un modelo canino, que el colágeno tipo III permanece aumentado, en la plastia remodelada, durante más de un año y vuelve a valores normales hacia los tres años, sugiriendo que el proceso de ligamentización puede continuar durante mucho más tiempo del esperado. El colágeno tipo III es propio de las cicatrices de la reparación temprana de los ligamentos y tiene una menor resistencia mecánica que el colágeno tipo I. La persistencia de las fibrillas de colágeno de pequeño diámetro y el aumento de colágeno tipo III ayudan a comprender por qué los modelos animales demuestran unas propiedades mecánicas inferiores del ligamento reconstruido que del LCA normal.

El tiempo de reparación es diferente según los modelos experimentales utilizados. Rougraff et al [204] realizando RNM con contraste de gadolinio, no vieron

cambios vasculares excepto en el tejido periligamentoso del LCA que está en desacuerdo con los hallazgos de Weiler et al [245] quien observó, con la misma técnica, en ovejas, una fuerte vascularización durante los primeros tres meses postoperatorios.

Diferentes autores [1][52][246][256] señalan que tanto las plastias de ligamento rotuliano como de la pata de ganso presentan un recambio de fibrillas de colágeno de gran diámetro por otras de diámetro menor durante dos años. Esto coincide con las conclusiones de Bosch et al [35] de que la plastia sigue un proceso de adaptación más que una reparación.

En conclusión, en los modelos animales la reparación de la integridad de una plastia y la apariencia histológica es completa entre los 6 y los 12 meses de reparación, adquiriendo una morfología similar a la del LCA normal. Esto se apoya en los estudios biomecánicos que alcanzan la mayor resistencia unos 12 meses después de la intervención sin apreciarse cambios más tarde. Sin embargo, permanecen durante muchos años diferencias estructurales, especialmente en la composición de la matriz extracelular sin alcanzar la resistencia mecánica del LCA intacto. Está claro, por otra parte, que los estudios en modelos animales con roturas de LCA, no se pueden comparar directamente con los pacientes en clínica. El proceso biológico es muy similar, pero la intensidad de remodelación de la plastia en el ser humano es claramente inferior al modelo animal.

No está claro como es el mecanismo exacto que guía la “ligamentización”; lo más importante es que la mecánica articular de la rodilla se restaure con la reconstrucción del LCA, de tal manera que las condiciones mecánicas del LCA intacto se puedan reconstruir completamente. Solo, cuando la reconstrucción puede restaurar la anatomía del LCA intacto, la cinemática articular no presentará diferencias estabilizada por un LCA o por una plastia.

HIPÓTESIS

Hipótesis

Un túnel de mayor diámetro que la plastia que lo ocupa facilita la osteolisis por el relleno del espacio entre el injerto y el hueso con el liquido sinovial de la propia articulación que impide la integración osteoligamentaria que el líquido sinovial de la articulación lo rellena e impide la integración osteoligamentaria.

Hipótesis nula

Las plastias tendinosas se integran siempre independientemente del grosor del túnel

Objetivos

Para demostrar la hipótesis planteada nos hemos propuesto los siguientes objetivos:

1. Estudiar la integración osteo-ligamentaria de una plastia tendinosa en la reparación de un LCA roto con túneles de diferente diámetro
2. Estudiar la integración biológica o “ligamentización” de la plastia con túneles de diferente diámetro
3. Analizar la biomecánica del complejo fémoro - plastia - tibia, con túneles de diferente diámetro y didtintos tiempos de evolución

Material y métodos

Animales y Metodología

Realizamos el estudio de la integración del ligamento cruzado anterior en ovejas (raza merino), de 3 años de edad y 30 kilogramos de peso. El estudio fue aprobado por el Comité de Experimentación animal de la Mutua de Accidentes de Trabajo de la SS, nº 61, de Majadahonda, Madrid.

Los animales se sacrificaron a los 3, 6 y 12 meses. Se operaron 54 animales que fueron agrupados

Grupo 0: Animales para el diseño de la metodología o animales fallecidos antes de tiempo.

Grupo A: Plastia tendinosa autóloga del tendón del flexor superficial de la pezuña incluida en un túnel, femoral y tibial, de 5 mm de diámetro.

Grupo B: Plastia tendinosa autóloga del tendón del flexor superficial de la pezuña incluida en un túnel, femoral y tibial, de 7 mm de diámetro.

Como se puede ver en la Tabla 1, inicialmente se utilizaron ambas patas pero viendo, en algunos casos, que los animales tenían una evolución poco satisfactoria, decidimos adquirir nuevas ovejas para evitar perder las cirugías de larga evolución.

Los procedimientos quirúrgicos se llevaron a cabo en el quirófano experimental de la Mutua de Accidentes de Trabajo de la SS, nº 61, dotado con los medios técnicos y el personal necesario para realizar las intervenciones con estrictas medidas de asepsia.

El proyecto pertenece a una parte de un proyecto más amplio financiado por el FIS.

Cuidados pre-operatorios

Los animales llegaron al animalario una semana antes de su operación para su adaptación a las nuevas condiciones ambientales. A su llegada al recinto, fueron esquilados y desparasitados, y dos días antes de la operación permanecieron en ayuno y con poca agua. El día anterior a su operación, se lavaron con jabón antiséptico y se procedió a su secado con estufas de aire caliente.

Cada animal poseía su propio espacio individualizado, separada de los otras ovejas. A medida que se realizaban cirugías las agrupamos, debido al carácter social que posee el ganado ovino.

Anestesia de la oveja

Se utilizó anestesia general con intubación endotraqueal.

Para proceder a la administración de la medicación anestésica, se canuló la vena cefálica presente en la extremidad anterior derecha. Una vez canulada se conectó a un sistema de gotero, a través del cuál se suministró también fluidoterapia de mantenimiento, con suero glucosado al 5%. El catéter fue del tipo Abbocat, de calibre 14 ó 18.

La inducción anestésica se consiguió mediante la administración por vía intravenosa de:

- Tiobarbital®, (Abbot) a una dosis de 12 mg/Kg
- Atropina®, (B. Braun) 0,5 mg/Kg
- Fentanil® (Kern), a una dosis de 0,015 mg/Kg

La anestesia se mantuvo con:

- Tiobarbital® a una dosis de 10 mg/Kg
- Fentanil® a una dosis de 0,015 mg/Kg

Con esta medicación se logró una depresión del estado de consciencia del animal junto con un buen efecto analgésico, sin afectar a la actividad respiratoria espontánea, suficiente para poder practicar las operaciones programadas.

El despertado del animal se realizó de forma espontánea.

Modelo experimental

Los pasos seguidos en la técnica quirúrgica fueron los siguientes:

Preparación del animal

Se colocó al animal en decúbito supino sobre la mesa de operaciones y se inmovilizaron ambas extremidades anteriores y la extremidad posterior derecha mediante cintas. Se procedió al rasurado cuidadoso de la extremidad izquierda sobre la zona a intervenir. Se prosiguió con un lavado minucioso con detergente antiséptico de la extremidad y posterior pincelación de la misma con solución alcohólica de yodo al 0,5%, aislando mediante un vendaje estéril desde el extremo distal de la extremidad hasta el tobillo.

Todas las cirugías se efectuaron sin isquemia pero con el mayor cuidado, realizando hemostasia ante cualquier vaso sangrante. También se cumplieron con las máximas condiciones de asepsia. Seguidamente se preparó el campo quirúrgico estéril.

Técnica quirúrgica

La cirugía se efectuó con una artrotomía de la rodilla, con una incisión larga pararrotiliana interna que nos permitió visualizar la articulación y la entrada y salida de ambos túneles, el femoral y el tibial. Como plastia autóloga decidimos reseca el tendón flexor superficial de la pezuña ya que no produjeron alteraciones funcionales importantes en el animal, dejando el tendón profundo intacto (Figura 1).

Realizamos una incisión pararrotiliana medial, desde el tercio distal del muslo hasta dos centímetros distal a la tuberosidad anterior de la tibia. En el ángulo distal de la incisión cauterizamos una vena superficial para evitar el sangrado.

Con el bisturí eléctrico efectuamos una sección de la aponeurosis superficial. Posteriormente, seccionamos el músculo vasto interno. Esto nos permitió luxar la rótula hacia fuera y flexionar completamente la rodilla. Terminamos la artrotomía seccionando parte del paquete adiposo rotuliano, y el ligamento adiposo para encontrar el ligamento cruzado anterior.

Una vez seccionado el ligamento cruzado anterior por sus inserciones, femoral y tibial, limpiamos los restos del ligamento y procedimos a perforar los túneles.

Primero efectuamos el túnel femoral, procurando entrar por la unión metafisaria de la diáfisis con el cóndilo externo y salir por el punto de inserción anatómica del LCA y saliendo. Los túneles se efectuaron con una broca de 5 mm o de 7 mm de diámetro, según los grupos, de forma aleatoria. Posteriormente, efectuamos el túnel tibial del mismo grosor que el túnel femoral. En este caso se perforó desde la cara interna de la extremidad proximal de la tibia procurando salir por el punto de inserción del LCA en la tibia (Figura 2) (Figura 3).

Una vez realizados los túneles limpiamos con abundante suero fisiológico para no dejar virutas óseas.

Flexionamos la rodilla para permitir el paso de un pasahilos por los dos túneles y ver la orientación y la longitud de los mismos (Figura 4).

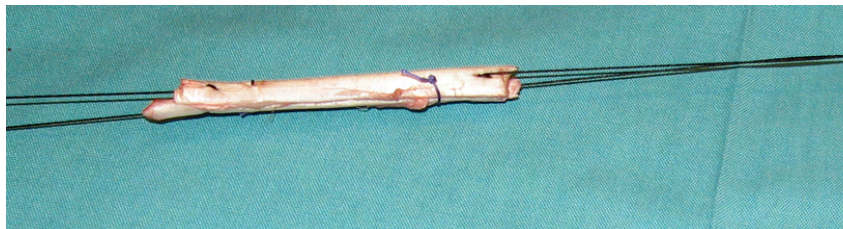
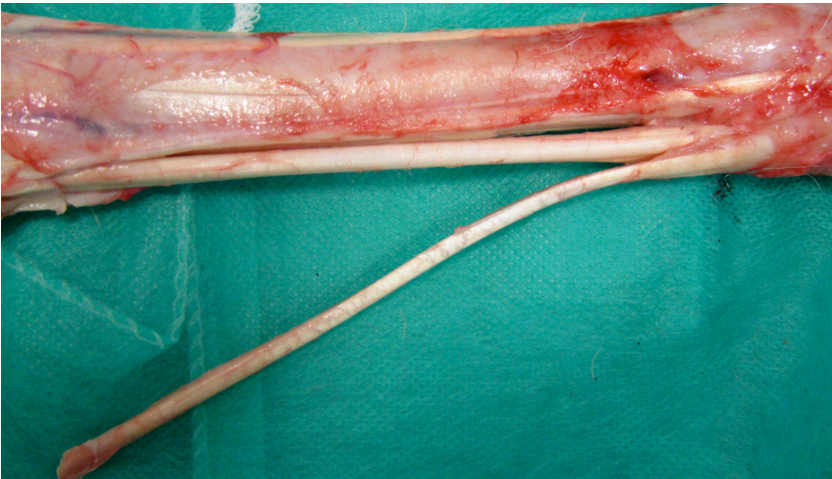
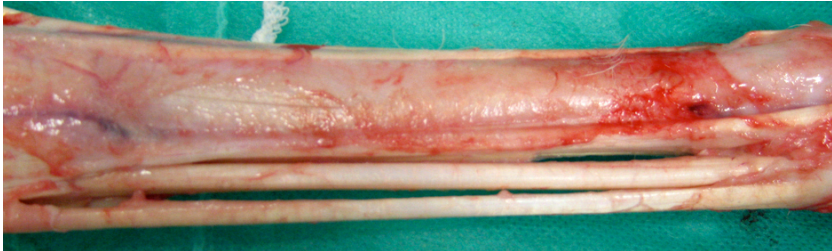
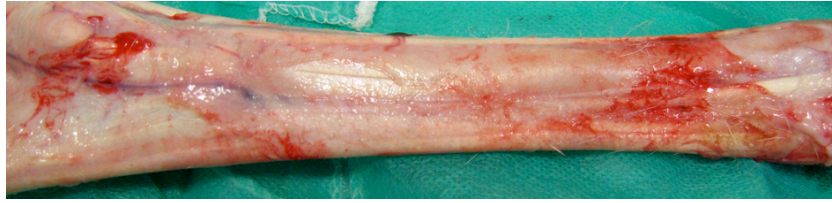


Figura 1. Obtención y preparación de la plastia sobre pieza anatómica. Plastia autóloga del tendón del flexor superficial de la pezuña. Montaje del injerto.

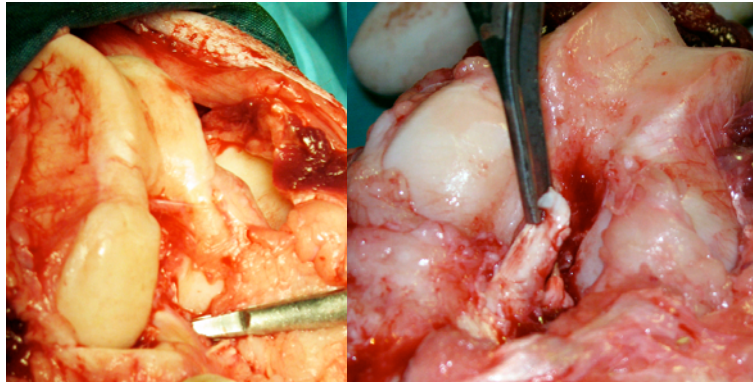


Figura 2. Artrotomía y sección del LCA

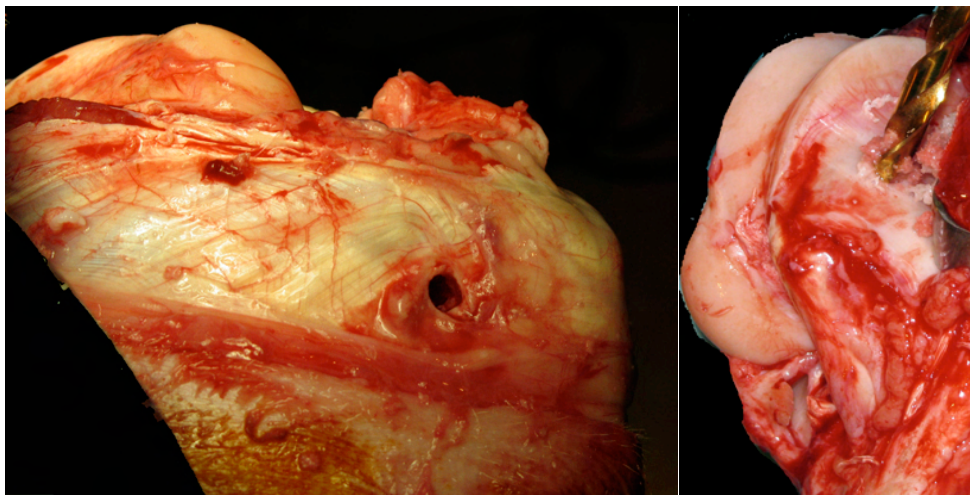


Figura 3. Entrada del túnel tibial y femoral



Figura 4. Posición de los túneles. A pesar de estar hecho en dos tiempos el pasagujas penetraba directamente por los dos túneles

En el mismo acto quirúrgico y de forma simultánea otro equipo se encargó de extraer la plastia del tendón del m. flexor superficial de la pezuña y, después de medir su longitud y grosor, enhebrar dos suturas en sus extremos con seda 00.

La plastia se cortó en bisel en sus extremos para facilitar el paso por los túneles

Pasamos la plastia que en los túneles de mayor calibre lo hizo sin dificultad mientras que en los túneles de 5 mm requirió mayor esfuerzo por lo que empleamos en estos casos suturas de seda de mayor grosor (0). El injerto se cortó con la longitud medida con el pasahilos para ocupar completamente los túneles.

Para extraer el injerto se hizo una incisión longitudinal en la cara posterior del metatarsiano, se abrió la aponeurosis y se seccionó el tendón superficial dejando intacto el profundo, cerrando luego la aponeurosis con una sutura reabsorbible y la piel con grapas.

Una vez colocada la plastia flexionamos y extendimos la rodilla para observar su correcta colocación y tensión y procedimos a su anclaje. Para no interferir en los túneles efectuamos un anclaje en suspensión con una aguja de Kirschner cortada, de 3 cm de larga, sobre la que anudamos la sutura de los extremos, dejando a tensión la plastia con la rodilla en flexión de 60°. Procedimos a realizar movimientos de flexo - extensión de la articulación para comprobar el estado de los anclajes.

Posteriormente, cerramos por planos. Primero dimos un punto distal y otro proximal con la rodilla en extensión y posteriormente con la rodilla en flexión. Una vez comprobando el buen recorrido y posición fémoro-patelar y estabilidad rotuliana se dieron el resto de puntos con la rodilla en flexión. No dejamos ningún drenaje intraarticular, ni tampoco realizamos ningún tipo de inmovilización (Figura 5) (Figura 6) (Figura 7) (Figura 8) (Figura 9) (Figura 10) (Figura 11) (Figura 12).

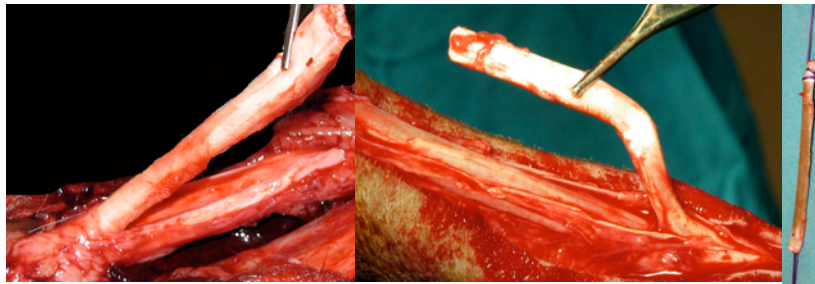


Figura 5. Extracción de la plastia

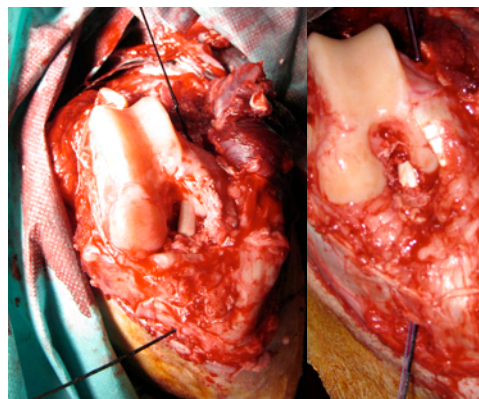
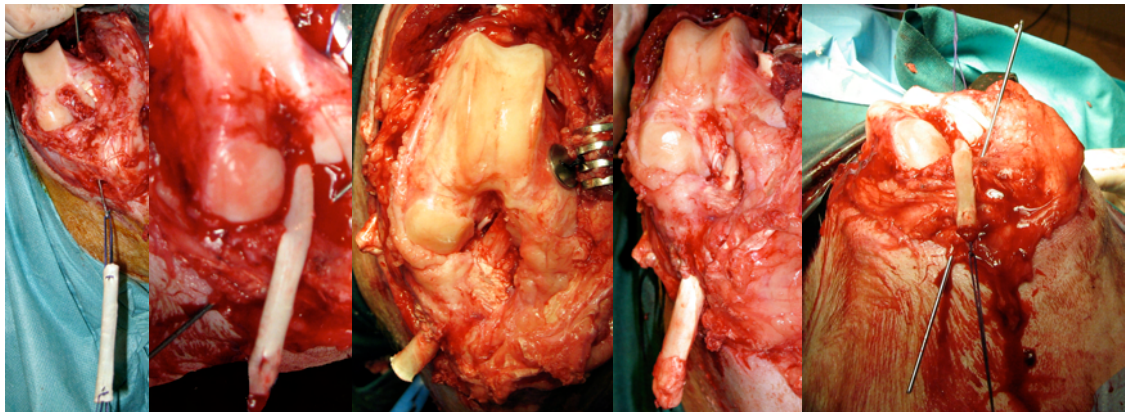


Figura 6. Técnica completa. Desde la obtención de la plastia, perforación de túneles, paso del injerto, colocación y sutura.

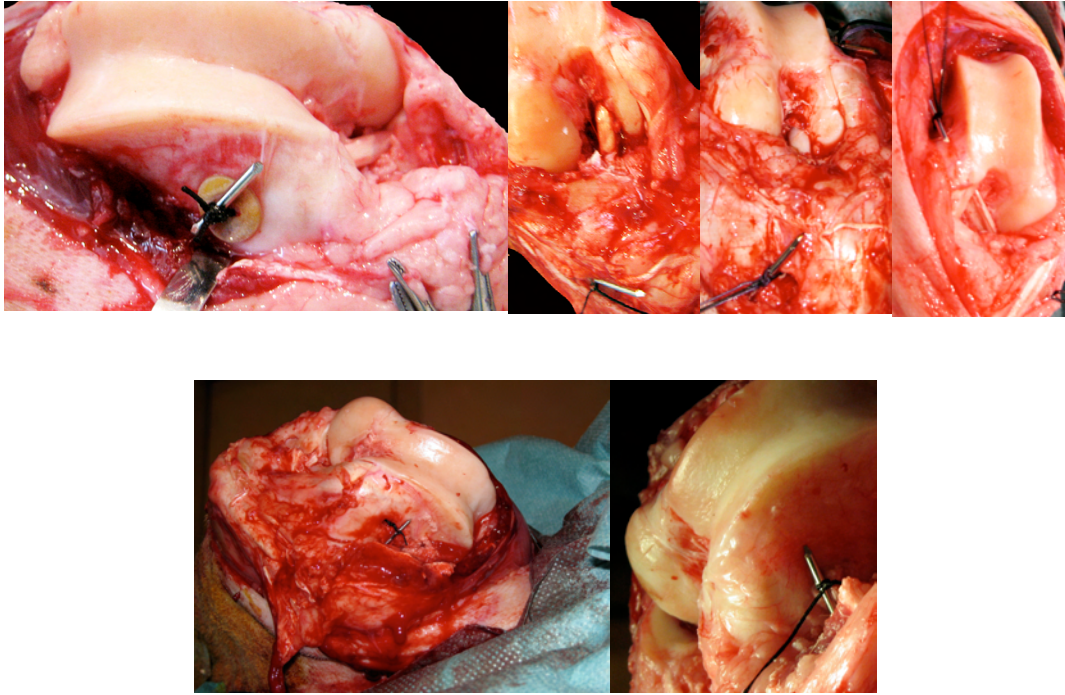


Figura 7. Colocación de las fijaciones tibial y femoral



Figura 8. Radiografía en el momento del sacrificio, con las dos agujas de fijación en su posición

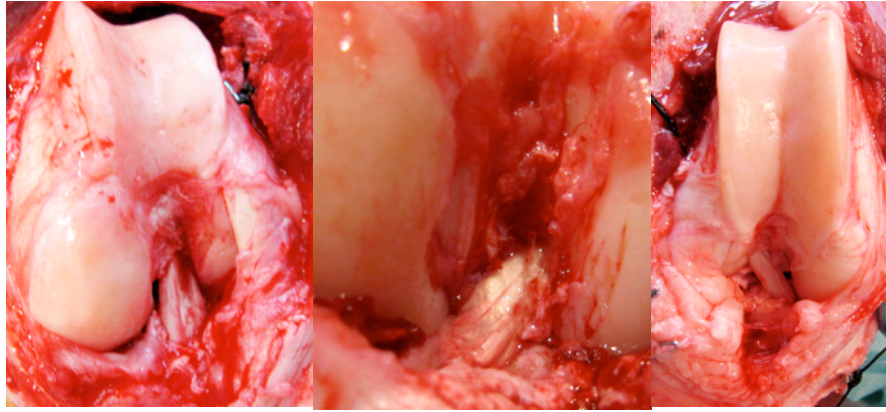


Figura 9. Imagen postoperatoria de las plastias correspondientes a los animales 107I, 3264I y 6069D

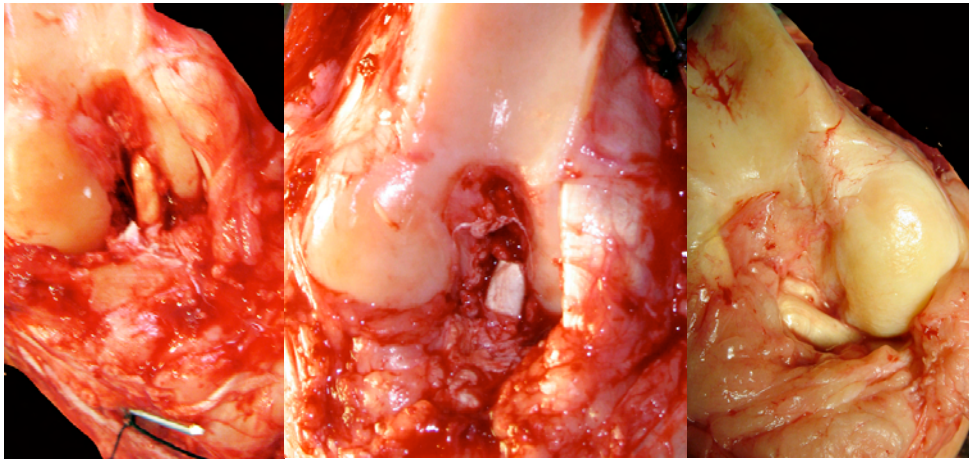


Figura 10. Imagen postoperatoria de las plastias correspondientes a los animales 6636D, 6858I y 6968I

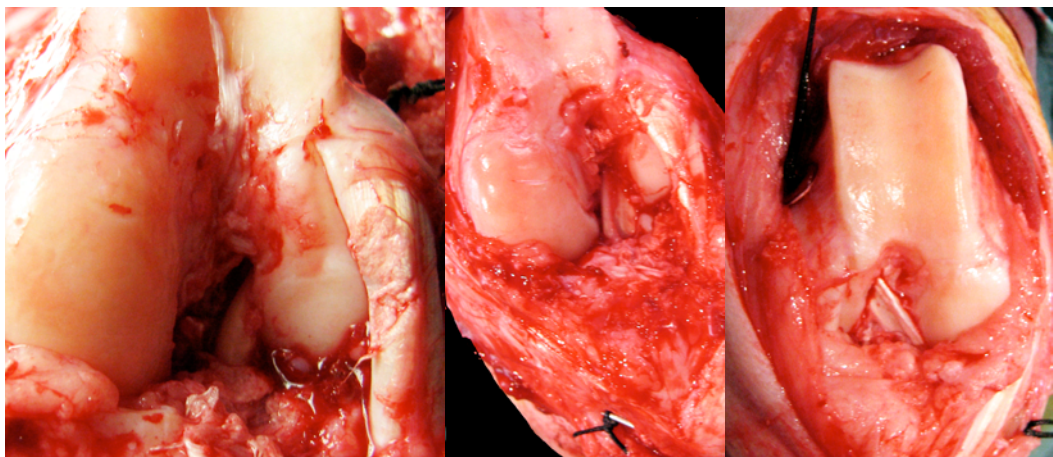


Figura 11. Imagen postoperatoria de las plastias correspondientes a los animales 6915D, 6919I y 6968I

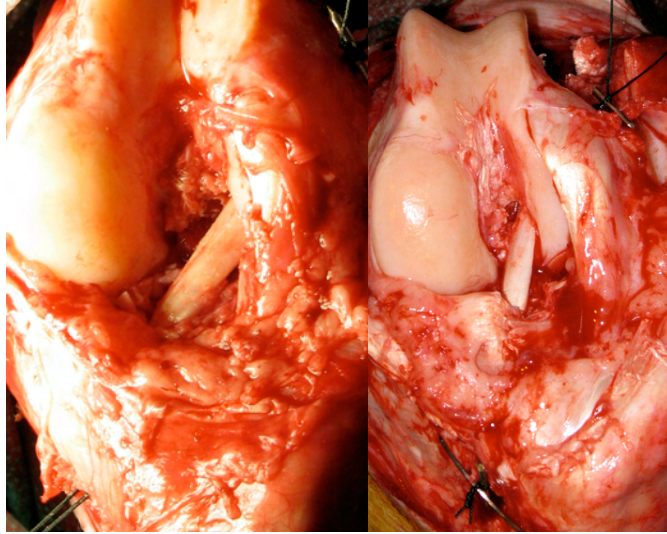


Figura 12. Imagen postoperatoria de las plastias correspondientes a los animales 8264 y 9385

Cuidados post-operatorios

Hasta el cese de los efectos de la anestesia los animales permanecieron en la sala anexa al quirófano, retirándose la cánula endovenosa, y desde allí fueron trasladados al animalario donde permanecieron estabulados, hasta la fecha del sacrificio.

La pauta analgésica fue ketoprofeno 3 mg/Kg, vía intramuscular (IM), cada 24 horas, durante los 3 días posteriores a la intervención y recibieron 1 g de tetraciclina diario durante 7 días.

Los animales deambularon libremente en su jaula y dispusieron de comida y agua ad libitum desde el primer día después de la intervención. Además, fueron controlados diariamente, para evaluar su deambulación y la evolución de la herida quirúrgica.

Sacrificio de los animales

Antes del sacrificio, el animal fue sedado mediante la administración de una dosis (IM) de Ketamina (10 mg/Kg) y Xilacina (0,2 mg/Kg) y fueron sacrificados con una inyección endovenosa con 0,1mg/kg de xilacina, 0,1 mg/kg morfina, 10 mg/kg ketamina y 5 g de tiobarbital.

Después del sacrificio del animal se extrajo completamente la rodilla intervenida. Se efectuó una radiografía de contacto (Faxitron®) y se cortó el cóndilo femoral interno y parte de los cóndilos tibiales y se incluyeron en formol. La fijación de las piezas se efectuó en formol, al 4%, tamponado con fosfatos, durante 24 horas.

Estudios realizados

Histología

La deshidratación de las piezas se realizó mediante alcoholes de gradación creciente (70%, 80%, 96% y 100%), con cambios cada 12 horas, manteniéndose en agitación constante. Posteriormente se introdujeron en xileno, durante 4 horas, y se incluyeron en parafina, a una temperatura de 60 °C. Finalmente, se realizaron cortes de 4 µm de grosor con microtomo convencional (Microm®, Modelo HM 340-E, Alemania) y se tiñeron con tricrómico de Masson y Safranina-O.

Terminado el proceso, seccionamos los túneles, femoral y tibial, transversalmente por su parte media y se desinsertó el ligamento cruzado anterior para proceder a su sección transversal.

Las porciones óseas fueron talladas cuidando de no cortar el túnel y posteriormente se hizo una nueva radiografía de los túneles.

Los túneles fueron cortados transversalmente procurando hacer los cortes perpendiculares al eje del túnel. se introdujeron en formol y, posteriormente, pasaron a decalcificación.

Con las plastias se efectuaron cortes sagitales y fueron teñidas con Tricrómico de Masson (TM) y van Gieson. Los túneles se tiñeron con tricrómico de Masson para ver la integración osteo-ligamentosa. Todas las preparaciones se visualizaron después con microscopio de luz polarizada.

Estudios biomecánicos

Los ensayos de biomecánica se efectuaron con una máquina INSTRON (Canton, Ma, EEUU) Electropuls 3000.

Se extrajeron las rodillas después del sacrificio. Se disecaron dejando los extremos óseos y la plastia. Se guardaron congeladas a -20° C. Las piezas

congeladas (tres de cada grupo) se utilizaron para efectuar un ensayo mecánico de tensión.

El ensayo se efectuó con una célula de carga de 5 kN. Se construyó una mordaza para colocar la rodilla a 30° de flexión y efectuar una tensión de 15 mm/min y analizar la fuerza de rotura y la zona de rotura de del complejo fémur - ligamento - tibia. La mordaza, la inferior, fue diseñada y construida por nosotros. Era un cilindro con 8 perforaciones roscadas por las que introdujimos tornillos de 4,5 mm de diámetro y 8 cm de longitud para anclar y fijar la tibia. Tenía un ángulo de 30°. La mordaza superior era una mordaza de Instron (Modelo 45.732 AD), un cilindro basculante con dos tornillos transversales, unida a la célula de carga, donde anclamos el fémur (Figura 13).

No se eliminó la aguja de fijación antes de hacer el ensayo para estudiar la integración osteo-tendinosa de la plastia para analizar el comportamiento mecánico de la propia plastia.

Se obtuvo la resistencia como la región lineal de la curva de tensión / deformación.

Antes de los ensayos, se sacaron los especímenes del congelador. Una vez descongelados a temperatura ambiente y humedecidas con suero fisiológico.

La rodilla se colocó en las mordazas y se efectuó el ensayo con una inclinación de 30° para conseguir que el túnel óseo quedase paralelo al eje de ensayo.

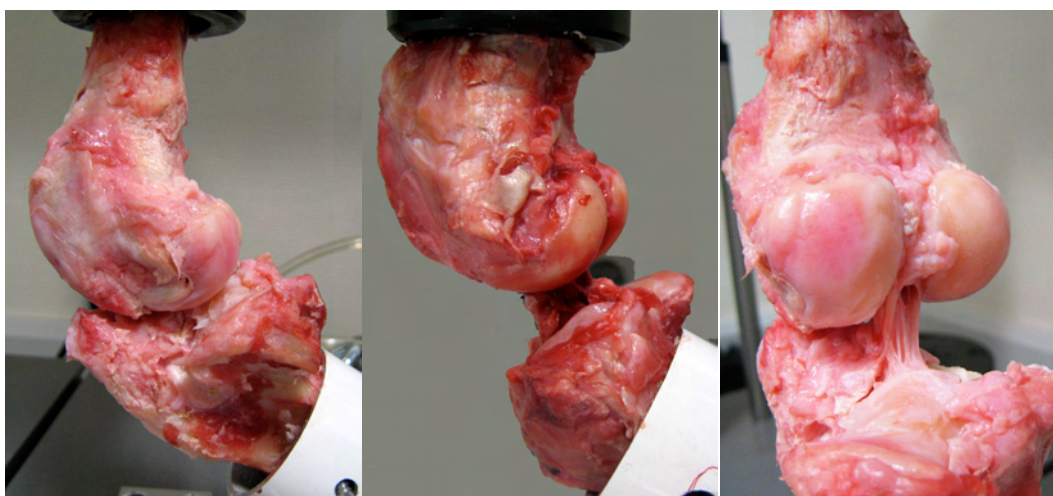


Figura 13. Disposición de la rodilla, sin cápsula ni ligamentos, a excepción del LCA para medir su resistencia a tensión

Antes de comenzar el ensayo de tensión se efectuó un pretensado de 0,5 N, durante 5 minutos, seguido de 10 ciclos con una deformación aproximada de 0,5% a un índice de 20 mm/min.

Posteriormente se comenzó el ensayo para determinar la carga máxima de rotura a una velocidad de 10 mm/min.

Se recogió la curva de tensión/deformación de donde se obtuvieron la carga máxima y la resistencia. También se anotó el punto de rotura, si se producía, en la inserción proximal, distal o en la plastia.

Experiencia del Grupo 0 para establecer el modelo experimental

El grupo 0, o grupo de prueba, nos sirvió para establecer la técnica y analizar los problemas. Incluimos en este grupo aquellos animales que fallecieron y no cumplieron con el tiempo previsto. Estos animales nos permitieron establecer un modelo experimental homogéneo, reproducible y fiable. Seguimos las siguientes pautas metodológicas:

- Operar una rodilla por animal. En algunos casos vimos un sufrimiento innecesario en animales cuando se les operó la segunda rodilla
- Utilizar el tendón flexor superficial de la pezuña, el tendón de Aquiles produjo alteraciones funcionales importantes
- Utilizar un anclaje en suspensión, con una aguja de Kirschner cortada con una longitud de 3 cm, por su facilidad, buen funcionamiento y permitió la introducción de todo el tendón en ambos túneles, sin necesidad de tornillos o grapas.
- Emplear seda 0 o 00 para el anclaje de la plastia, según fueran del grupo A o B,
- Cortar los extremos de la plastia en bisel para facilitar la penetración del tendón
- Establecer túneles de 5 mm y de 7 mm. Vimos que con el túnel de menor calibre la plastia ofreció mucha resistencia a su paso requiriendo doblarla y quedando en el interior del túnel a presión. El calibre de 7 mm permitió el paso de la plastia con mucha facilidad. Túneles de mayor calibre destrozaron el hueso mientras que calibres inferiores no permitieron el paso del tendón.

Este grupo nos permitió estudiar plastias con tiempos de evolución cortos (Tabla 1).

TABLA 1

Animales incluidos en el Grupo 0

Nº	lado / duración cirugía	túnel (mm)	evolución (días)	Observaciones
Nº: C3063 26/01/09	Izquierdo 2 h	7	20	tendón de Aquiles anclaje: tornillo y arandela en fémur y tibia.
Nº: C3195 29/01/09	Izquierdo 2,30 h	9	15	tendón de Aquiles anclaje: tornillo tibia y aguja K en fémur. Dificultad técnica
Nº: C4293 05/02/09	Izquierdo 1,25 h	5	30	Flexor superficial pezuña. Tornillo en tibia y aguja K en fémur. Rotura del hilo al pasar la plastia.
Nº: C3041 18/02/09	Izquierdo 1 h	7	21	Flexor superficial pezuña. Tornillo en tibia y aguja K en fémur. Buena disposición.
Nº: 2059 24/02/09	Izquierdo 1 h 40 min	5	26	Flexor superficial pezuña. Tornillo en tibia y aguja K en fémur.
Nº: 3075 24/02/09	Izquierdo 2 h	5	43	Flexor superficial pezuña. Tornillo en tibia y aguja K en fémur. Túnel posterior.
Nº: 2077 26/02/09	Izquierdo 2 h	7	31	Flexor superficial pezuña. Tornillo en tibia y aguja K en fémur. Rótula inestable. Dolor.
Nº:3175 26/02/09	Izquierdo 1 h	7	28	Flexor superficial pezuña. Tornillo en tibia y botón en fémur. Cirugía a dos campos simultáneos
Nº 107 (108) 01/06/09	derecho 30 min	5	28	Plastia: Flexores de la pezuña. Fijación tibia y fémur con agujas de K Se observa flexo de pezuña en pata contralateral.
Nº 9385 D 28/5/09	derecho 60 min	5	28	Plastia: Flexores de la pezuña. Fijación tibia y fémur con agujas de K
Nº 6858 28/05/09	derecho 50 min	5	28	Plastia: Flexores de la pezuña. Fijación tibia y fémur con agujas de K. Sospecha luxación contralateral

Tabla 2
GRUPO A (5 mm)

Fecha cirugía Nº crotal Lado	Evolución (meses) Tiempo cirugía	Observaciones
23/03/09 Nº: 6868 Lado: Izquierda	12 60'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones
24/03/09 Nº: 6794 Lado: Izquierda	12 75'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones
26/03/09 Nº: 6914 Lado: Izquierdo	12 60'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones.
26/03/09 Nº: 3202 Lado: Izquierda	12 60'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones.
26/03/09 Nº: 3264 Lado: Izquierda	12 50'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones.
31/03/09 Nº: 6908 Lado: Izquierda	12 70'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K Incidenias: Rotura de arteria poplítea lo que provoca fuerte sangrado.
31/03/09 Nº: 6532 Lado: Izquierda	6 30'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones.
28/05/09 Nº: 6532 Lado: derecha	3 30'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones.
01/04/09 Nº: AV 9385 Lado: Izquierda	3 60'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones.
28/10/09 Nº: 1783 Lado: izquierda	3 40'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones.
21/04/09 Nº: 6858 Lado: izquierda	3 45'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones.
22/04/09 Nº: 6636 Lado: izquierda	3 60'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones.

Fecha cirugía Nº crotal Lado	Evolución (meses) Tiempo cirugía	Observaciones
28/05/09 Nº: 6636 Lado: derecha	3 60'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones.
23/04/09 Nº: 107 Lado: izquierda	3 60'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones.
13/10/09 Nº: 3866 Lado: izquierda	6 40'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K Incidencias: Plastia corta pero entra con facilidad. Buena movilidad.
14/10/09 Nº: 0077 Lado: izquierda	6 60'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K Incidencias: Se rompe plastia parcialmente al introducirla
15/10/09 Nº: 2807 Lado: izquierda	6 40'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones.
19/10/09 Nº: 6530 Lado: izquierda	6 40'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones.
27/10/09 Nº: 6042 Lado: izquierda	6 45'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K Incidencias: Plastia corta pero entra con facilidad. Buena movilidad.
27/10/09 Nº: 6419 Lado: izquierda	3 40'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones.
27/10/09 Nº: 8340 Lado: izquierda	3 40'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones.
28/10/09 Nº: 9406 Lado: izquierda	3 40'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones.

Tabla 3
GRUPO B (7 mm)

Fecha cirugía Nº crotal Lado	Evolución (meses) Tiempo cirugía	observaciones
23/03/09 Nº: 3265 Izquierda	12 75'	Fijación tibia y fémur: Fijación agujas de K Buena fijación. Rodilla estable.
24/03/09 Nº: 6301 Izquierda	12 60'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones.
27/03/09 Nº: 1058 Izquierda	12 50'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones.
01/04/09 Nº: 6919 izquierdo	12 60'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones.
03/04/09 Nº: 7082 izquierda	12 60'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K Incidencias: Muere de parto natural. Se extrae rodilla. Se hacen Rx.
03/04/09 Nº: 6964 izquierda	3 60'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones.
26/05/09 (2ª cirugía) Nº: 6964 derecha	3 60'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K Incidencias: La plastia no queda a tensión. Se perfora menisco interno de forma iatrogénica.
06/04/09 Nº: 8264 izquierda	3 60'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones.
02/06/09 (2ª Cirugía) Nº: 8264 izquierda	3 60'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones.
06/04/09 Nº: 6069 izquierda	3 50'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones.

Fecha cirugía Nº crotal Lado	Evolución (meses) Tiempo cirugía	observaciones
26/05/09 (2ª cirugía) Nº: 6069 derecha	3 45'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K Incidenias: precisa hemostasia debido a sangrado abundante.
17/04/09 Nº: 6968 izquierda	3 60'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones.
02/06/09 (2ª cirugía) Nº: 6968 derecha	3 50'	Fijación tibia y fémur: Fijación tanto en tibia como en fémur con botones con 2 orificios. Incidenias: presenta protuberancia en rótula contralateral.
22/04/09 Nº: 6915 izquierda	3 40'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones.
01/06/09 (2ª cirugía) Nº: 6915 derecho	3 60'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K Incidenias: 30/06/09 se produjo dehiscencia de herida. Se realizó limpieza, desbridamiento abundante en quirófano hasta conseguir sangrado activo y se suturó.
13/10/09 Nº: 8784 izquierdo	6 40'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones.
14/10/09 Nº: 8342 izquierda	6 40'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones.
20/10/09 Nº: 8133 izquierdo	6 40'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones.
19/10/09 Nº: 4488 izquierdo	6 50'	Fijación tibia y fémur: Fijación con agujas de K sin complicaciones.

Tabla 4

Distribución de los animales por grupos y tiempo de evolución

	Grupo 0	3 meses	6 meses	12 meses
Grupo A (5 mm)	9385d	6532d	3866l	6868l
	6858d	9385l	0777l	6794l
	107d	6636d	2807l	6914l
	3075 l	6858l	6530l	3202l
	4293 l	107l	6042l	3264l
	2059 l	8340l	6532l	6908l
		9406l		
		1783l		
		6419l		
		6636l		
Grupo B (7 mm)	3063 l	6964d	8784l	3265 l
	3041 l	8264d	8342l	6301 l
	2077 l	6069d	4488l	1058 l
	3175 l	6968d	8133l	6919 l
		6915d	8264l	7082 l
		6915l	6069l	
			6968l	
			6964l	

RESULTADOS

Resultados macroscópicos

Todos los casos intervenidos fueron sacrificados y antes de seccionar la pieza y radiografiarla observamos macroscópicamente su aspecto. En todos los casos, excepto uno que presentó una fibrosis generalizada (figura 17) y otro que no se abrió por infección, se observó una reconstrucción de la plastia de ligamento cruzado anterior que mostraba un aspecto denso, como si fuera un tendón.

La plastia apareció recubierta por sinovial y también se visualizó el ligamento anterior muestra de la reconstrucción de la sinovial y del paquete adiposo de la articulación de la rodilla (Figuras 14) (Figura 15) (Figura 16) (Figura 18) (Figura 19).

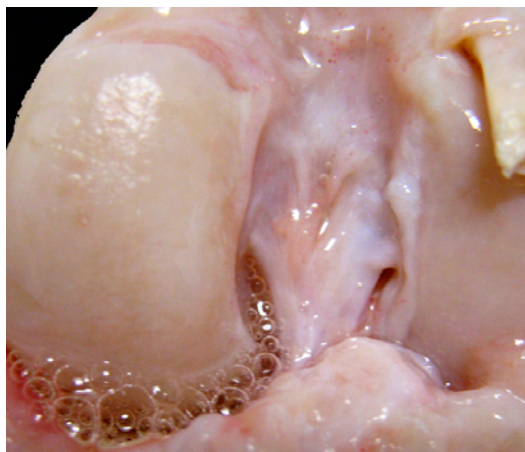


Figura 14. Muestra 0077 I, con 6 meses de evolución, e integración de la plastia en un túnel de 5 mm mostrando una envoltura sinovial de la misma.

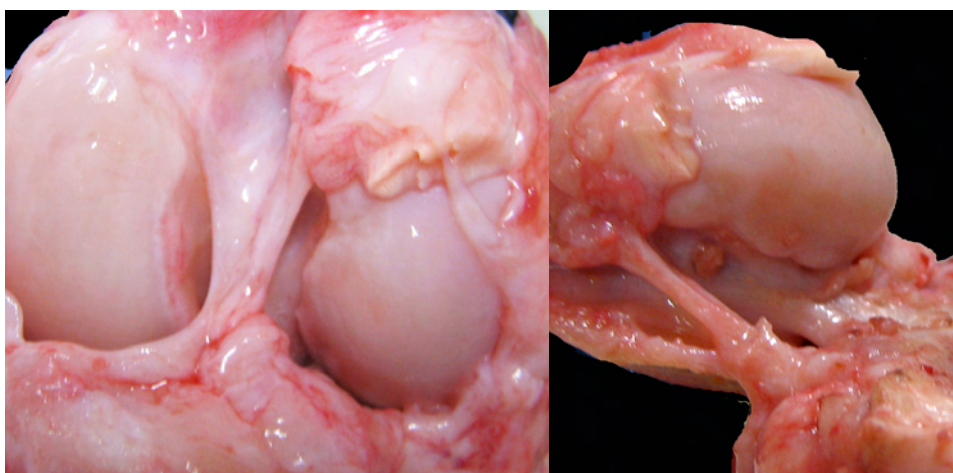


Figura 15. Muestra 2807 I, con un túnel de 5 mm de diámetro, con 6 meses de evolución y un recubrimiento sinovial de la plastia.

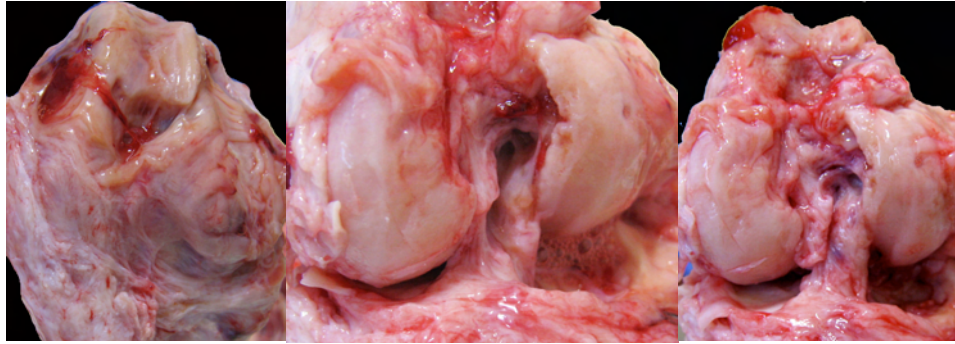


Figura 17. Muestra 8133 I, con un túnel de 7 mm de diámetro, con una artrofibrosis generalizada de la articulación



Figura 18. Muestra 6858 I, con un túnel de 5 mm de diámetro, a los tres meses de evolución apareció una plastia con un buen aspecto macroscópico.

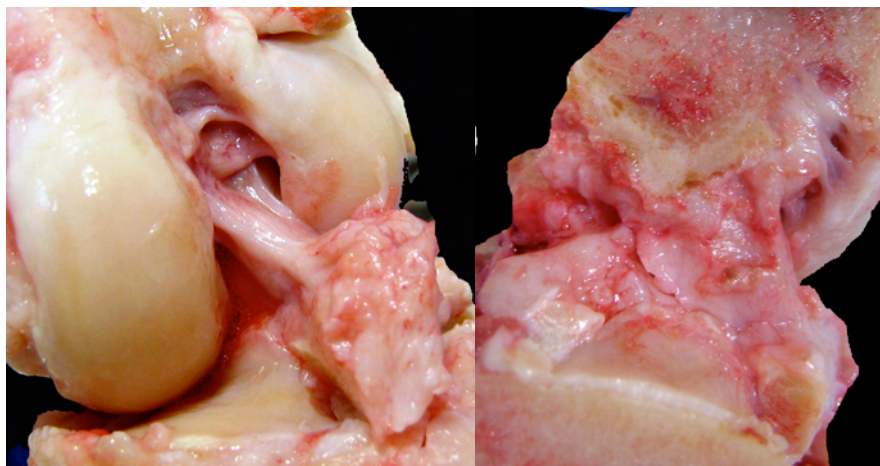


Figura 19. Muestra 8342 I, con 6 meses de evolución y un túnel de 7 mm de diámetro, apreciando en el corte de la escotadura un relleno de tejido fibroso que contiene en su interior a la plastia.

Resultados túneles de 5 mm de diámetro

Evolución de un mes: grupo 0

oveja #3075 I

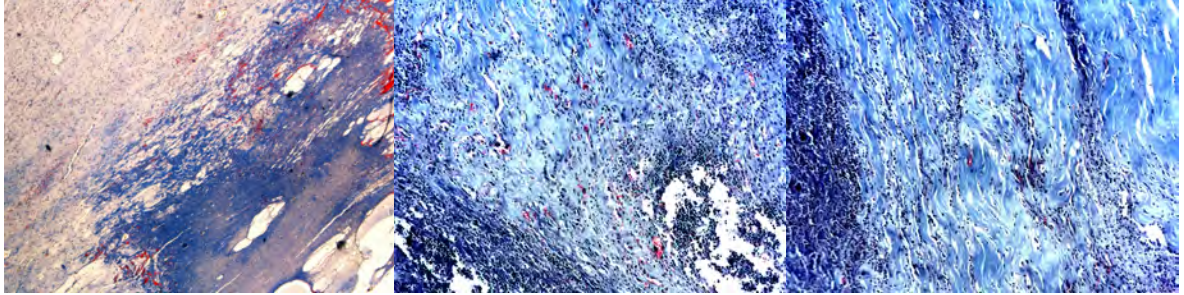


Figura 20. Apreciamos al microscopio óptico una plastia deshilachada con importante infiltrado celular hemático. El túnel, en un corte transversal, presentó esclerosis alrededor de la plastia. La interfaz entre las trabéculas óseas y la plastia fue por medio de fibras transversales y tejido fibroso laxo y celular, sin mostrar, con la luz polarizada una unión clara entre el tejido óseo y la plastia. a) x4, c, d) x10

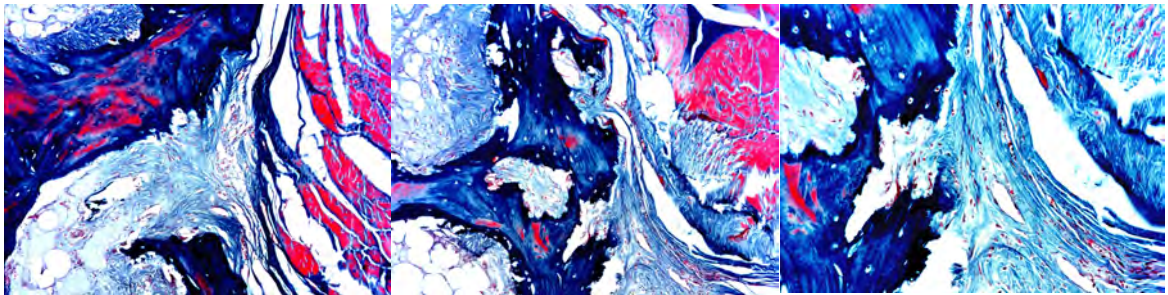


Figura 21. Plastia en el túnel tibial con fibras deshilachadas sin mostrar contacto con el hueso del túnel a, b) x10, c,d) x20

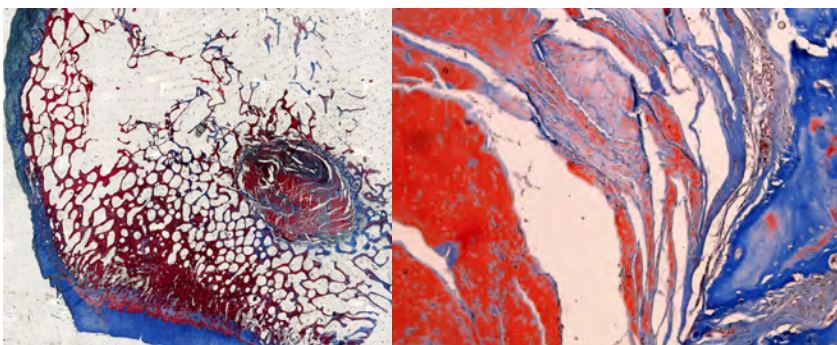


Figura 22. Corte del túnel tibial. Fibras deshilachadas de la plastia

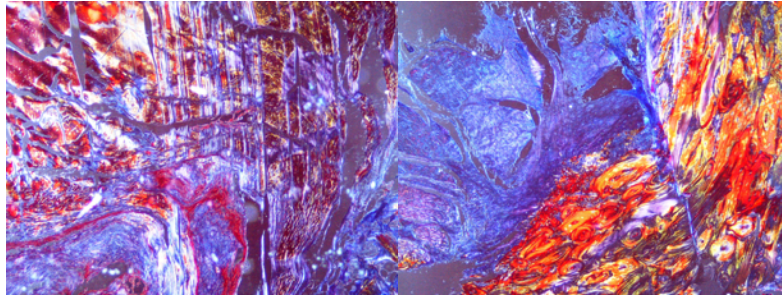


Figura 23. Imagen de luz polarizada sin mostrar fibras de colágeno uniendo el hueso con la plastia, a, tibia x4, b) fémur, x4

oveja #4293 I

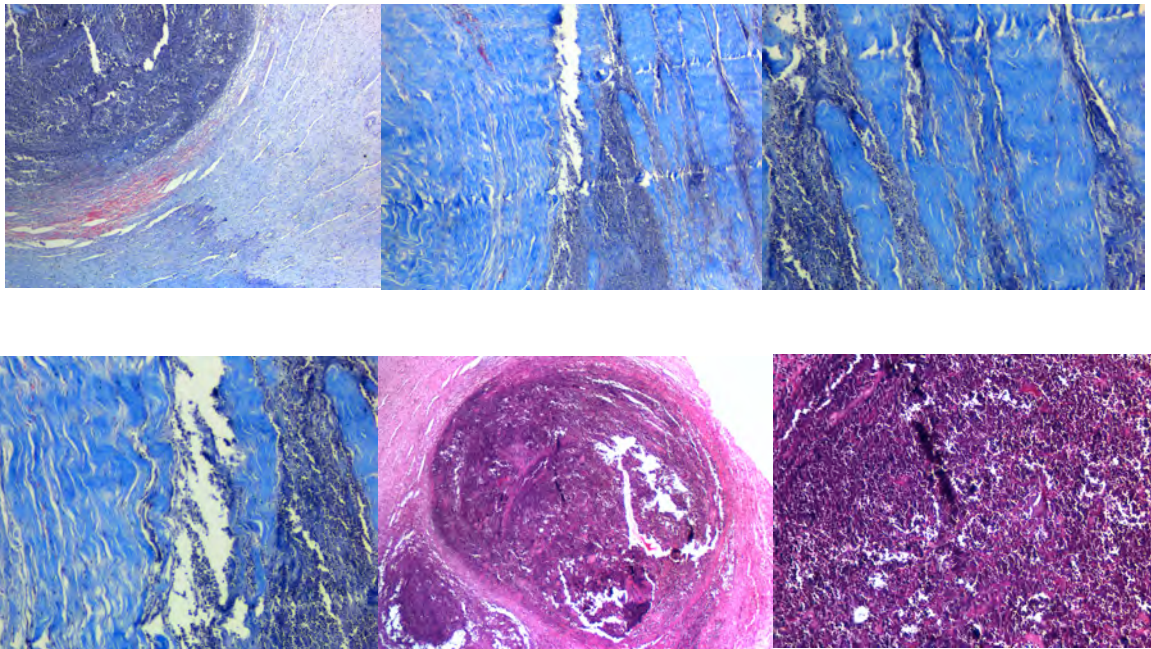


Figura 24. Plastia de un mes de evolución donde se apreciaron fibras de la plastia separadas mostrando las característica ondas y un infiltrado hemático entre las mismas. La plastia se mostró separada del tejido óseo por fibras transversales de colágeno sin apreciarse ningún tipo de unión entre ambos.

Evolución de 3 meses

oveja #9385 I

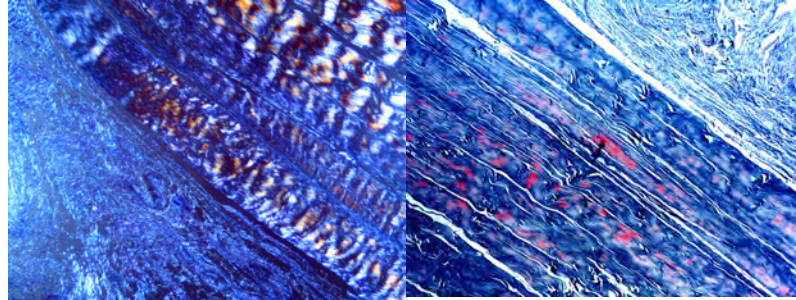


Figura 25. Imagen de luz polarizada de la plastia, una estructura de fibras de colágeno paralelas con espacios entre las mismas. Alrededor de la plastia se observó un tejido fibroso. a) x4, b) x4

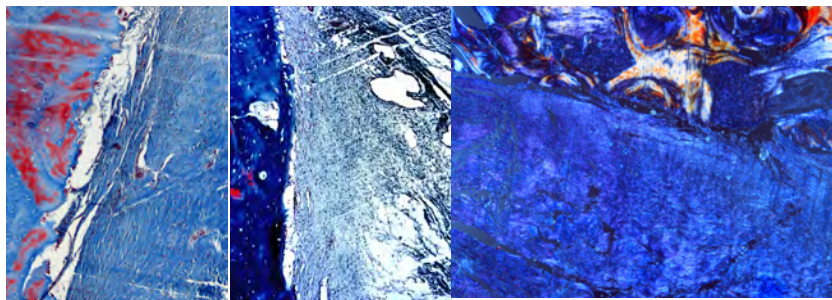
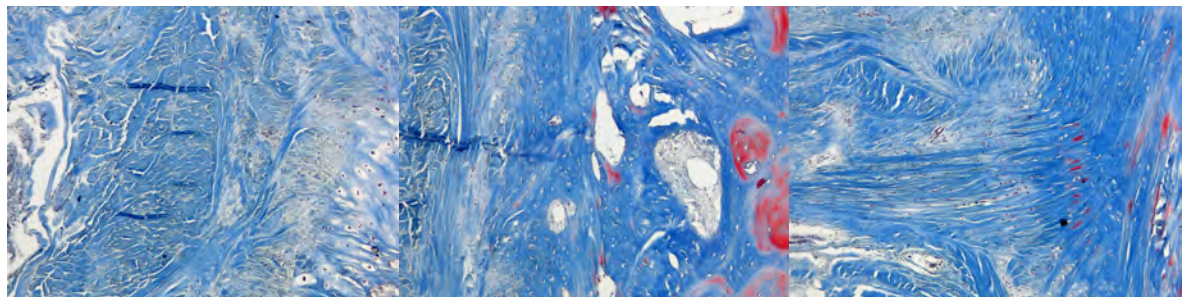


Figura 26. En el túnel femoral se siguió viendo un tejido óseo poco activo rodeado de un tejido fibroso que lo separa de la plastia.



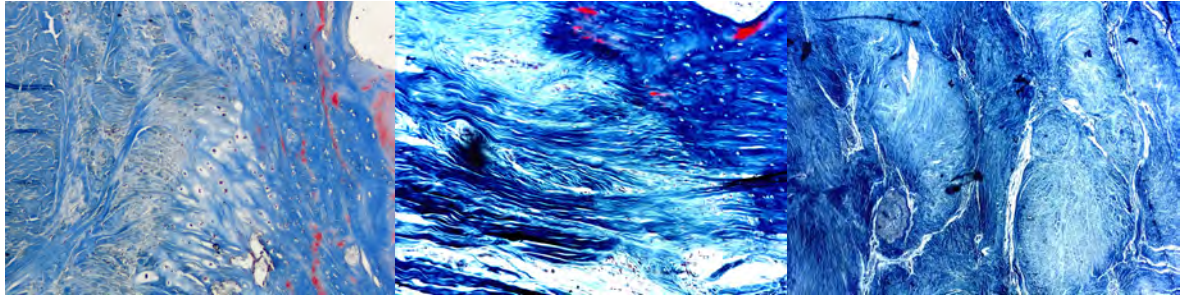


Figura 27. En el túnel tibial se apreció mayor cantidad de tejido fibroso si bien se vieron una organización de fibras perpendiculares a la superficie ósea como formando haces para envolver fibras de colágeno o para unirse a la plastia.

Evolución de 6 meses

oveja #0077 I

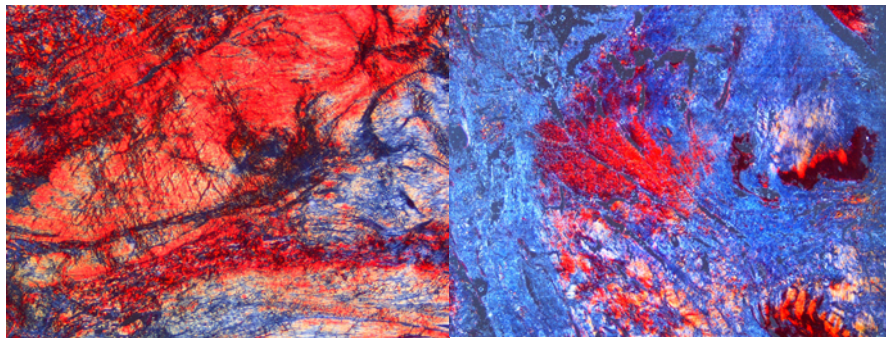


Figura 28. En el túnel femoral observo fibras de colágeno rodeadas de tejido fibroso que no llegaron a contactar con el tejido óseo del túnel. La plastia, con la luz polarizada, mostró una estructura desorganizada con contenido colagénico.

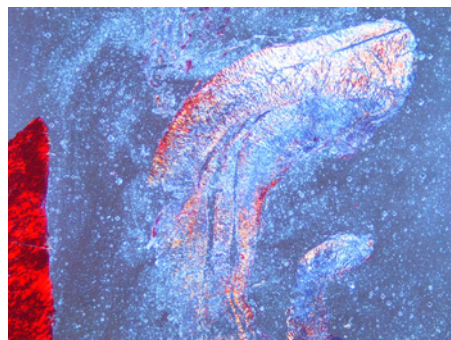


Figura 29. En el túnel tibial persistió el colágeno de la plastia separado de la estructura ósea por un tejido fibroso laxo.

oveja #2807 I

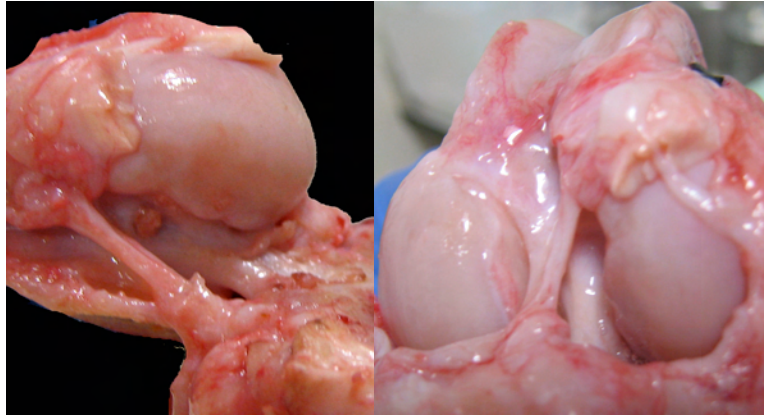


Figura 30. En la pieza obtenido tras el sacrificio del animal observamos una plastia fuerte con un ligamento anterior y una formación sinovial que nos hace ver una reconstrucción anatómica de la articulación.

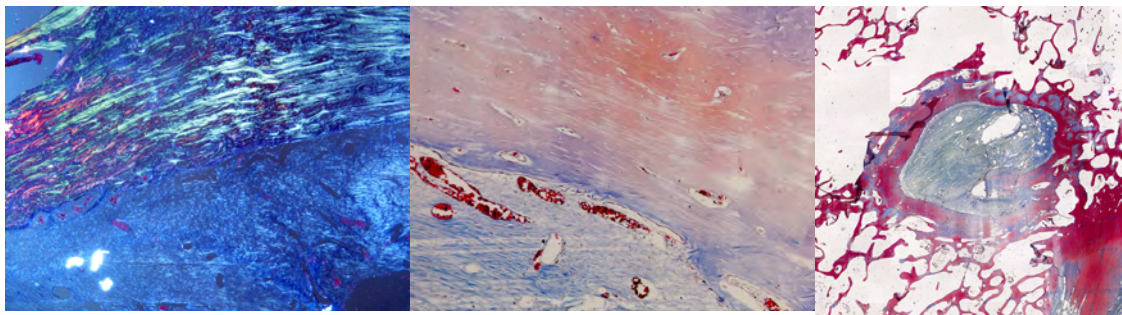


Figura 31. El túnel femoral presento un relleno completo, observando fibras de colágeno en su porción central rodeada de un tejido fibroso con importante penetración vascular túnel femoral y esclerosis ósea del túnel. No observamos unión directa entre la plastia y el hueso.

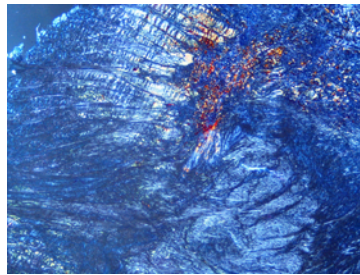
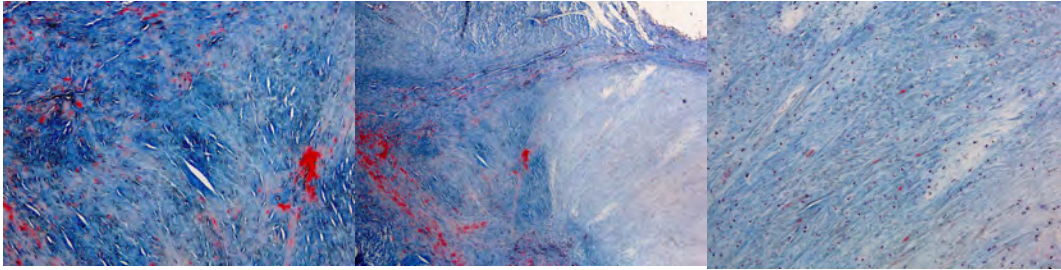


Figura 32. La plastia ofreció dos zonas diferenciadas una fibras de colágeno rodeadas de un tejido fibroso con una penetración vascular importante

oveja #3866 I

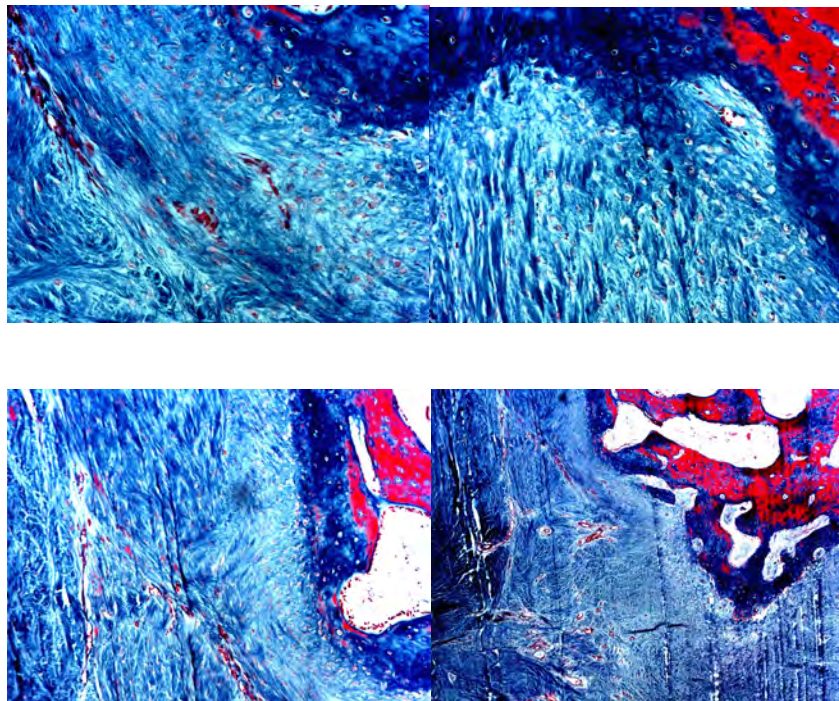


Figura 33. En el túnel femoral se observó un tejido fibroso con numerosos vasos, formación ósea trabecular de tipo endocrinal y tejido fibroso muy celular, con células fusiformes, perpendiculares a la superficie ósea.

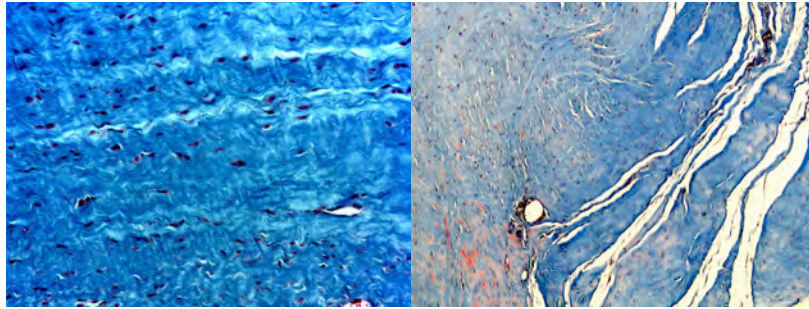
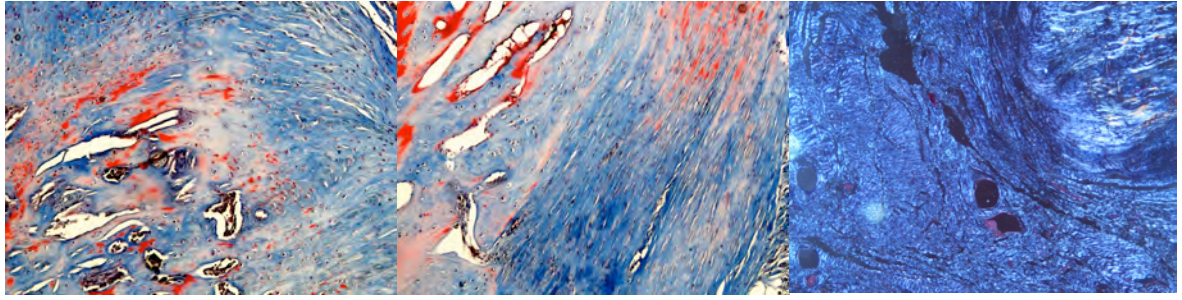


Figura 34. La plastia presento fibras de colágeno paralelas y onduladas con un tejido fibroso periférico que lleva numerosos vasos en su interior.

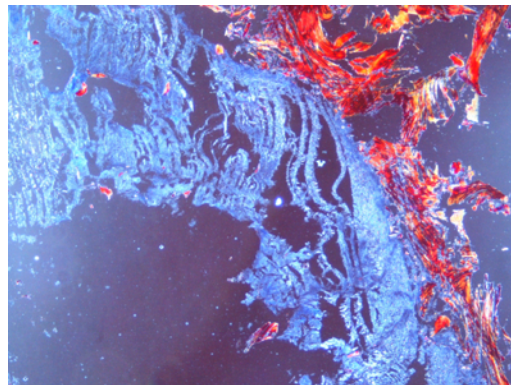


Figura 35. En el túnel tibial no se observó unión entre la plastia y el hueso (luz polarizada)

Evolución 12 meses

oveja #6794 I

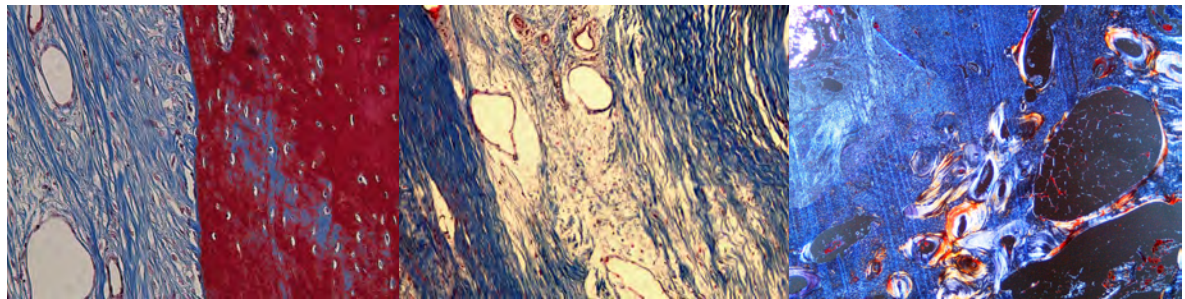
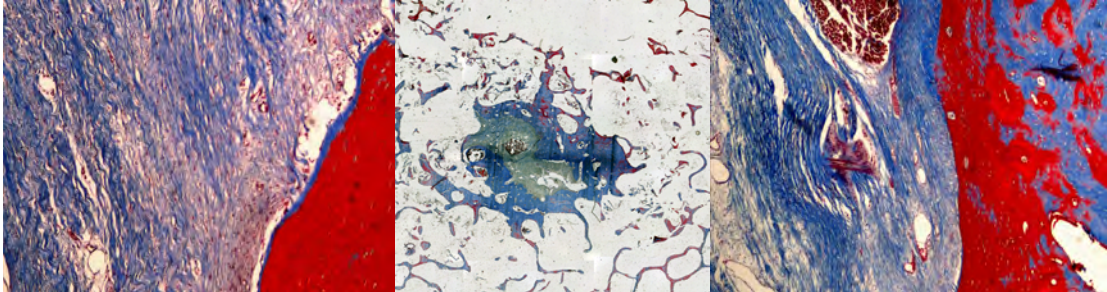


Figura 36. El túnel femoral presentó un tejido fibroso que rodeaba a la plastia y la une al hueso, con vasos, pero sin fibras que unan directamente la plastia al hueso.

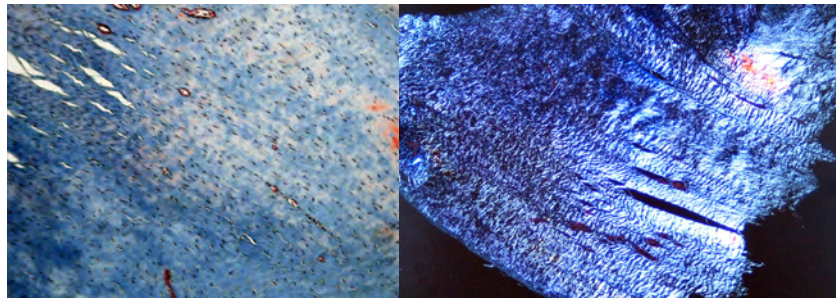


Figura 37. La plastia, con la luz polarizada presentó una imagen característica de fibras de colágeno rodeadas por tejido fibroso muy celular y vascularizado.

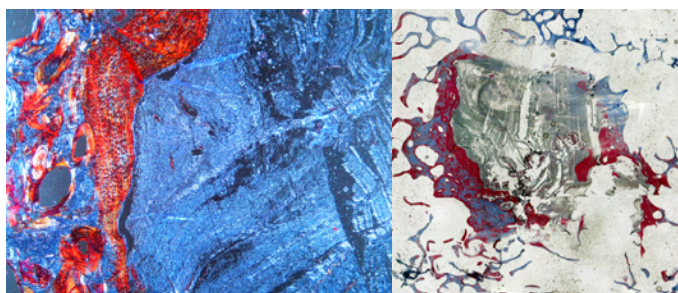


Figura 38. En el túnel tibial, a pesar de estar ocupado no observamos uniones directas de la plastia con el hueso ni, tampoco, fibras que unan directamente las dos estructuras.

oveja #3264 I

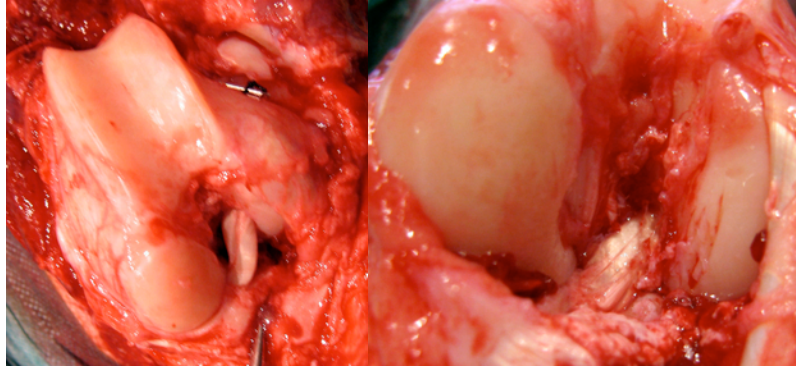


Figura 39. La cirugía demostró una buena colocación, disposición y aspecto de la plastia.

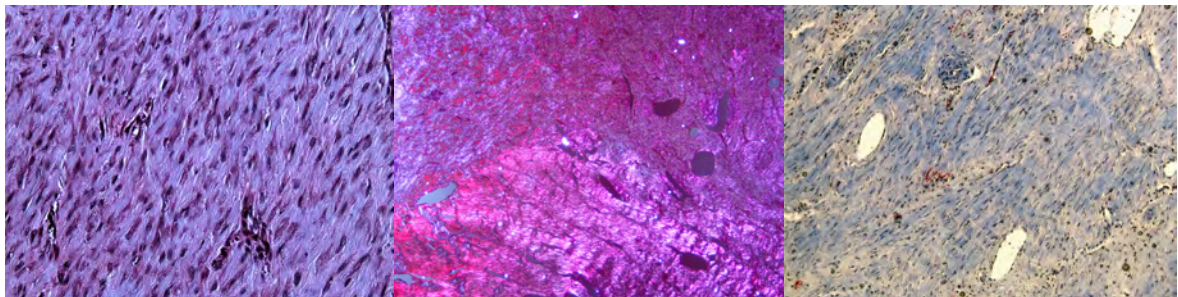


Figura 40. Plastia con importante infiltrado celular, fibras de colágeno propias del tendón y tejido fibroso que rellenaba la propia plastia. plastia

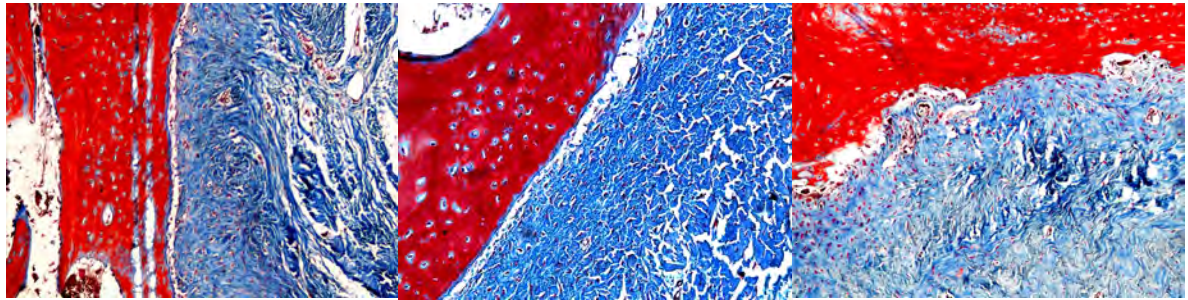
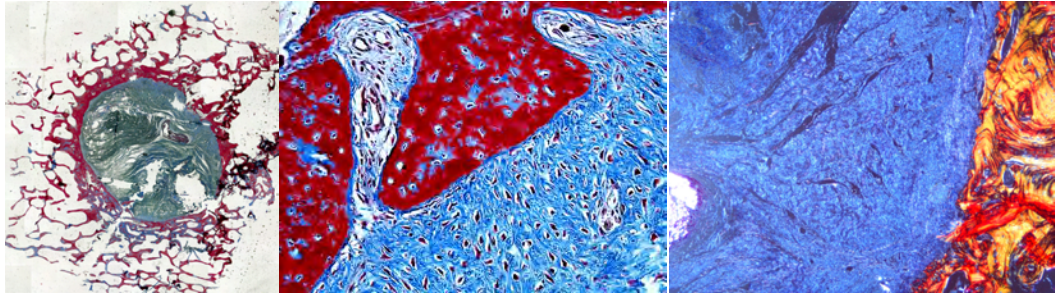


Figura 41. En el túnel femoral observamos una esclerosis alrededor de la plastia, con una condensación de fibras únicamente en el centro del túnel. A mayor aumento apreciamos un tejido fibroso muy celular, sin observar fibras de unión entre la plastia y el hueso.

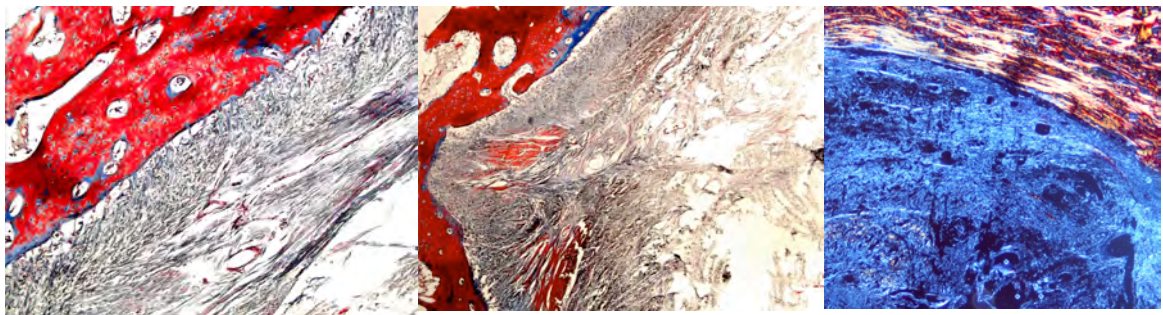


Figura 42. En el túnel tibial apareció un tejido muy laxo alrededor del tejido óseo, sin observarse fibras de unión entre la plastia y el hueso.

Resumen muestras histológicas con túnel de 5 mm de diámetro

A pesar de la tensión para penetrar la plastia en los túneles y de la ocupación de los túneles por la plastia, tanto femoral como tibial, no observamos una integración directa de la plastia con el hueso, tampoco se observaron fibras que uniesen directamente ambas estructuras. Por el contrario, en todos los casos vimos un tejido fibroso muy celular y vascular con el tiempo que en no consiguieron integrar ambas estructuras.

Resultados túneles de 7 mm

Grupo 0: 1 mes de evolución

oveja #3041 I

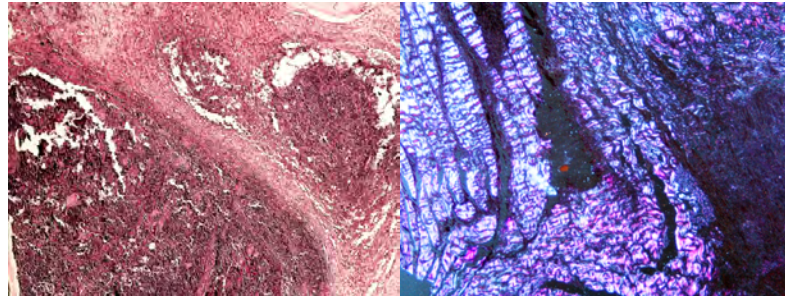


Figura 43. Estructura de fibras de colágeno con infiltrado hemático rodeando las fibras de colágeno y penetrando en su interior.

Oveja #3175 I

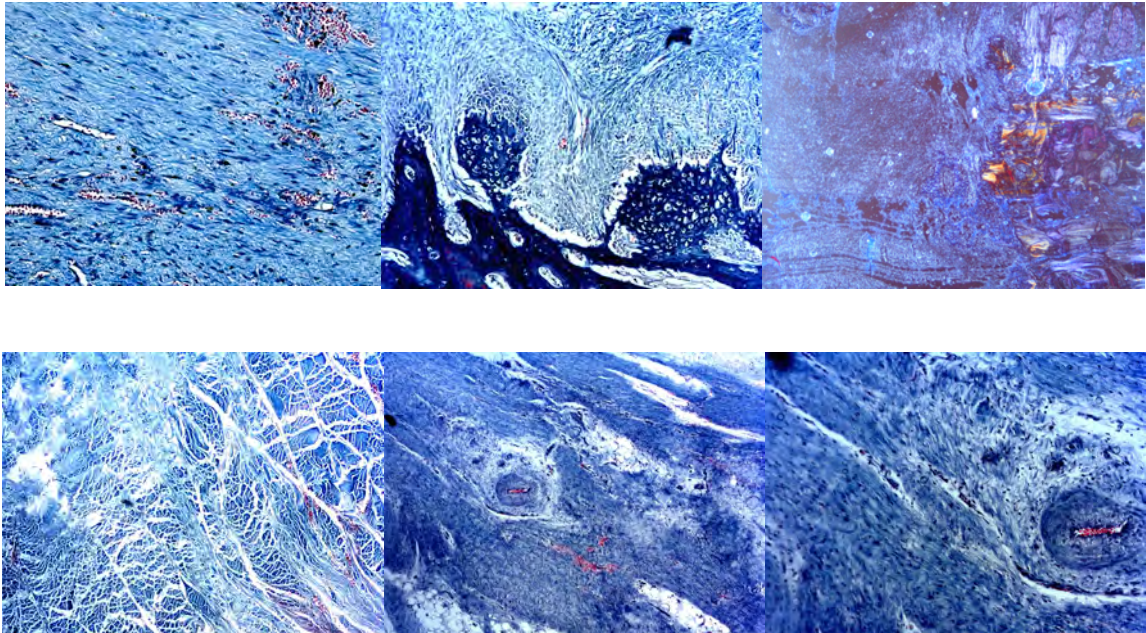


Figura 44. Formación de vasos en el interior de la plastia y trabéculas óseas de nueva formación de las que salían formaciones celulares que se dirigían hacia la plastia. En la luz polarizada no se observaron fibras de colágeno en la interfaz entre la plastia y el tejido óseo.

oveja #3063 I

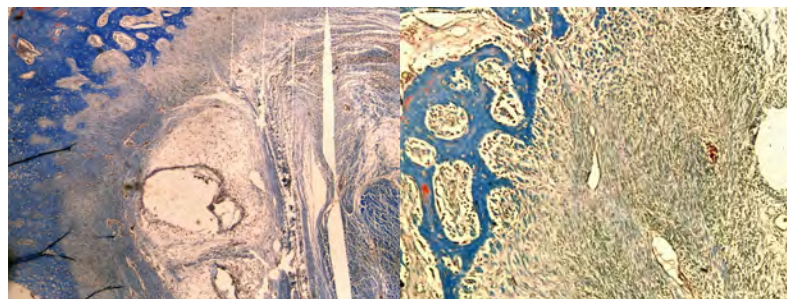
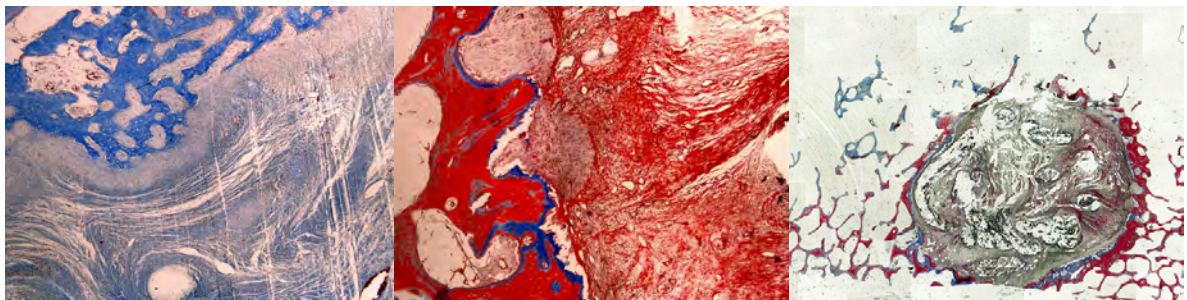
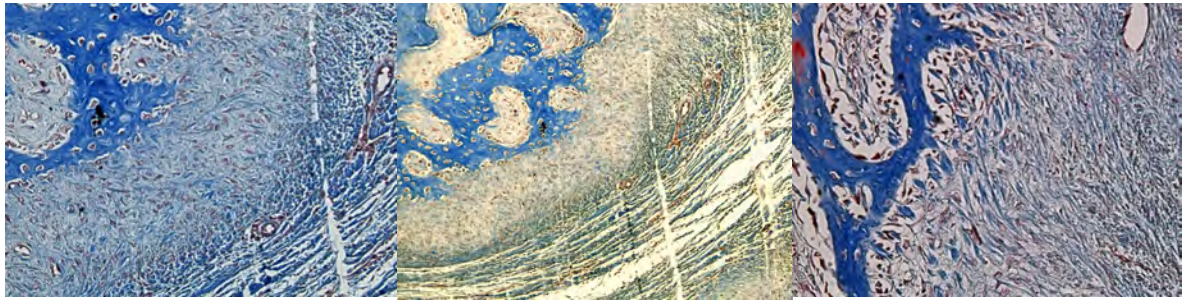


Figura 45. El túnel femoral presentó un relleno de la plastia incompleto mostrando las paredes del túnel trabéculas óseas de nueva formación con un tejido fibroso con importante contenido celular a su alrededor que lo separa de unas fibras paralelas y concéntricas

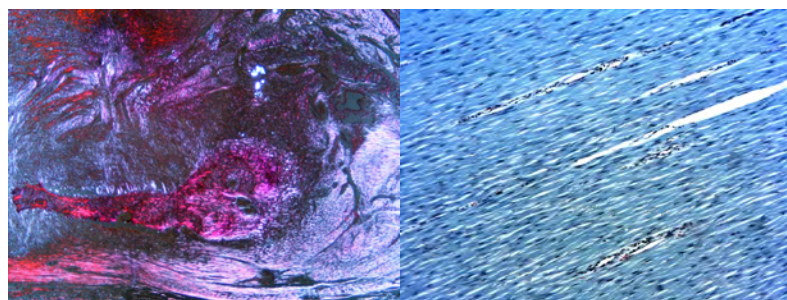


Figura 46. La plastia mostró una estructura desorganizada con la luz polarizada y unas fibras paralelas con células fusiformes en su interior

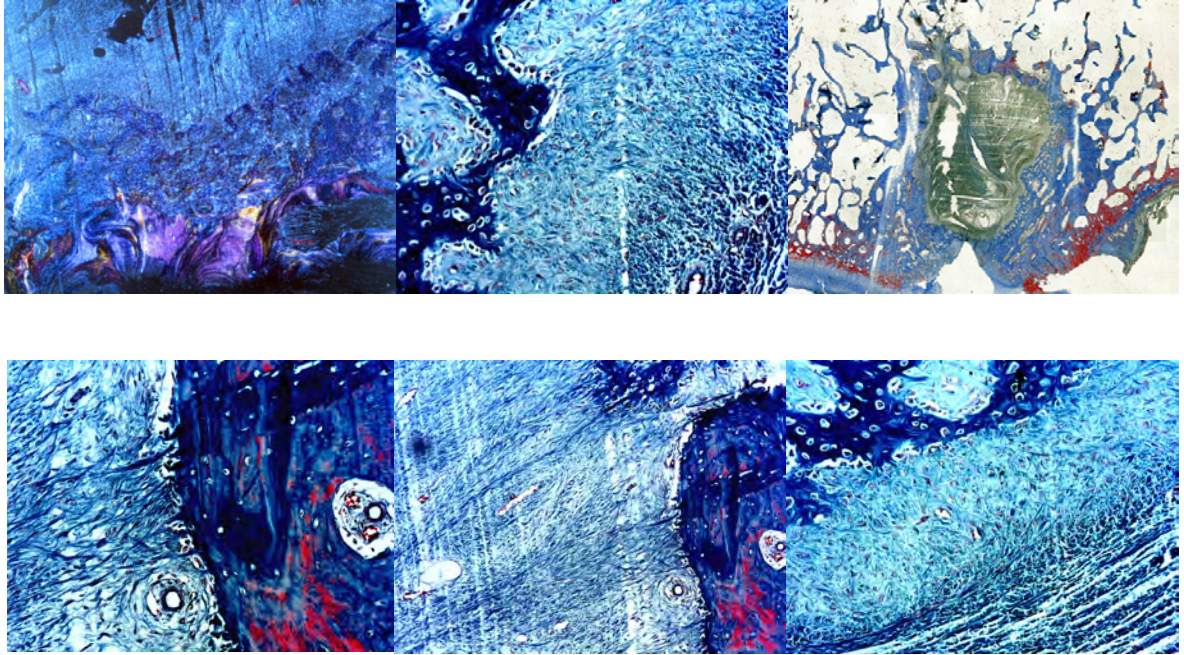


Figura 47. En el túnel tibial apareció la misma imagen que en el túnel femoral, el tejido óseo con trabéculas de nueva formación, un tejido fibroso alrededor de las mismas y, por dentro, fibras concéntricas. En algunas zonas observamos fibras perpendiculares que desde el tejido óseo se dirigían hacia el centro del túnel.

**Evolución de 3 meses
oveja #6915 D**

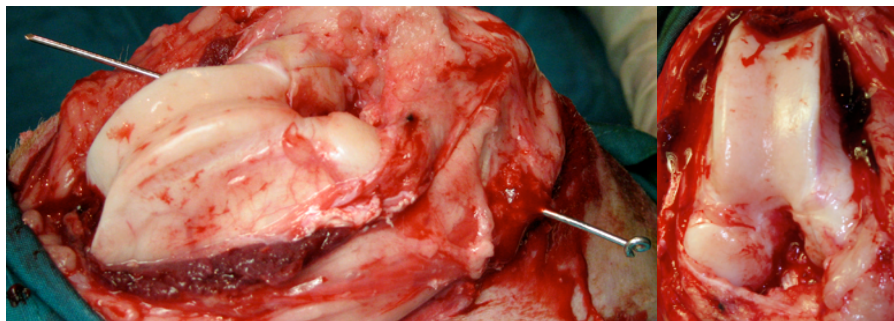


Figura 48. La disposición quirúrgica de la plastia fue adecuada, observando como el pasahilos penetra por el túnel tibial y sale por el femoral.

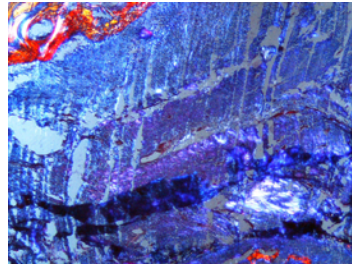
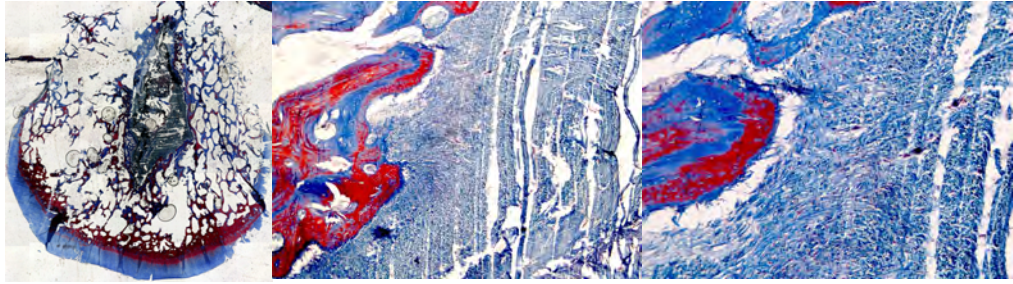


Figura 49. El túnel femoral no estaba completamente ocupado por la plastia. Observamos trabeculación y poca esclerosis en la pared del túnel. El tejido fibroso estaba interpuesto entre la plastia y el hueso, sin ver fibras perpendiculares de adhesión entre ambos.

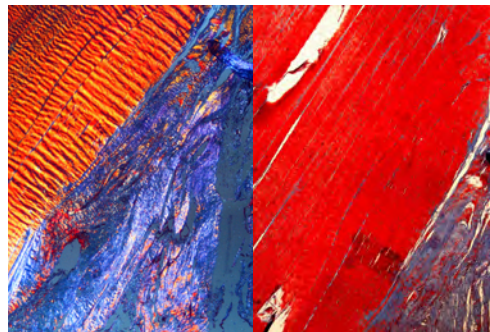


Figura 50. La plastia conservaba un aspecto de fibras de colágeno densas que recordaban al tendón original.

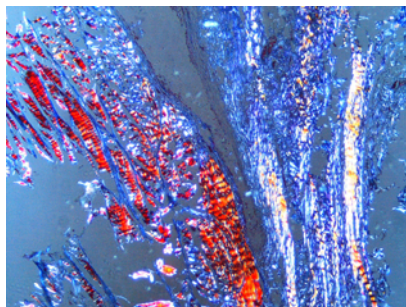


Figura 51. En el túnel tibial tampoco apreciamos unión entre las trabéculas óseas y unas fibras de colágeno paralelas dejando un espacio ocupado por un tejido fibroso.

oveja #6964 D

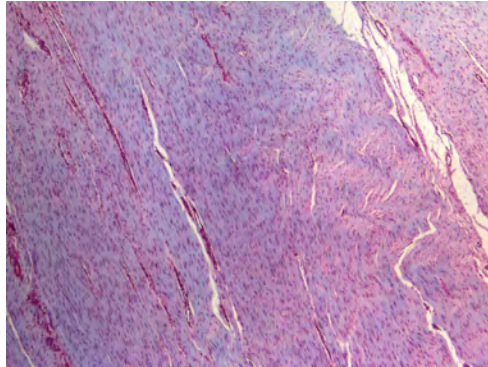


Figura 52. La plastia mostró una estructura homogénea con abundantes vasos dispuestos paralelos a las fibras de colágeno dejando espacios para su penetración entre las fibras

oveja #6069 D

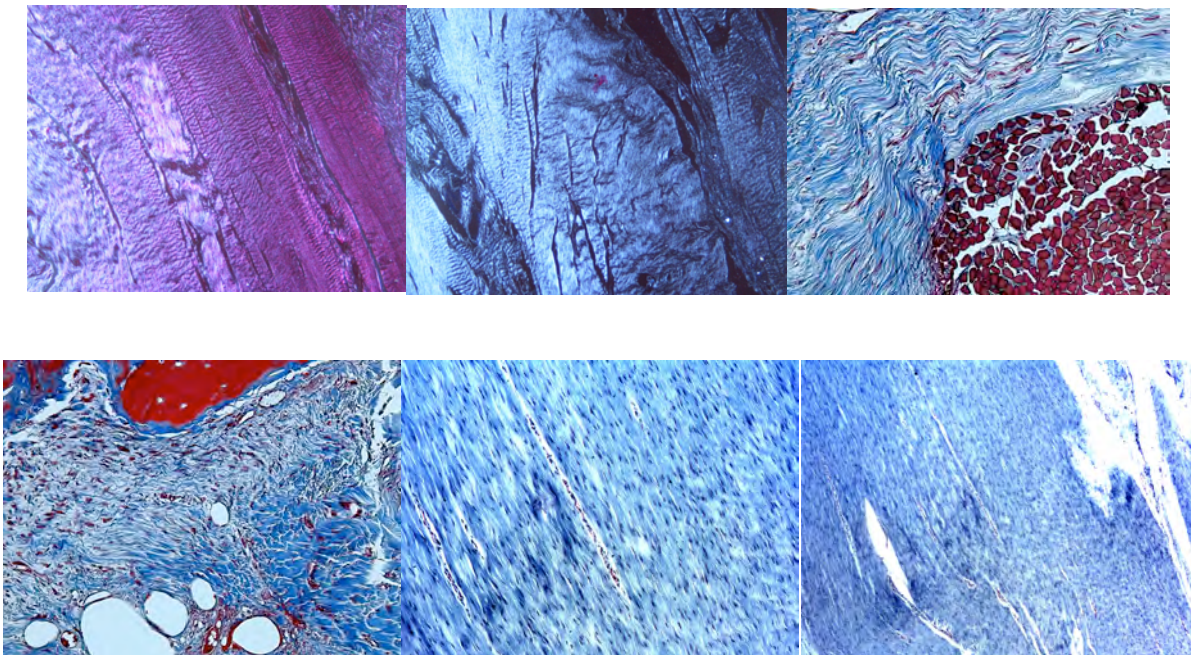


Figura 53. Fibras de colágeno paralelas con una estructura tendinosa, rodeadas de fibras de colágeno perpendiculares, con importante contenido celular y vascular. La unión del hueso con la plastia fue por medio de un tejido fibroso muy celular y vascularizado.

oveja #8264 D

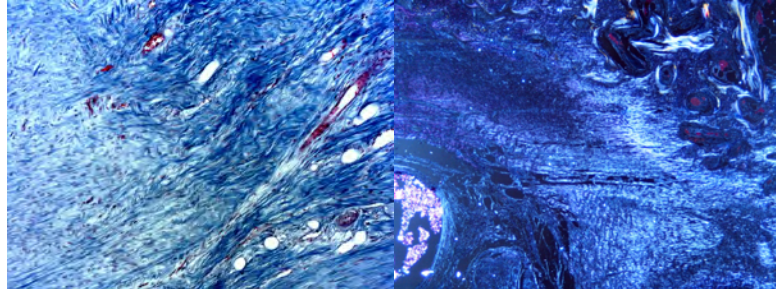
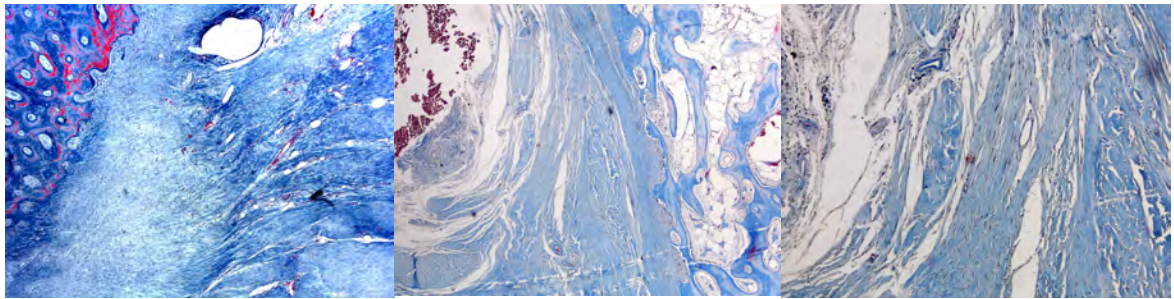
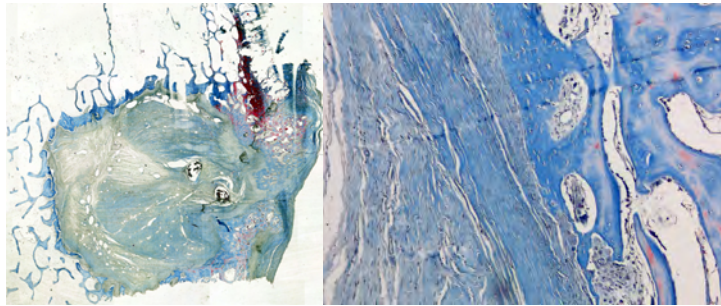
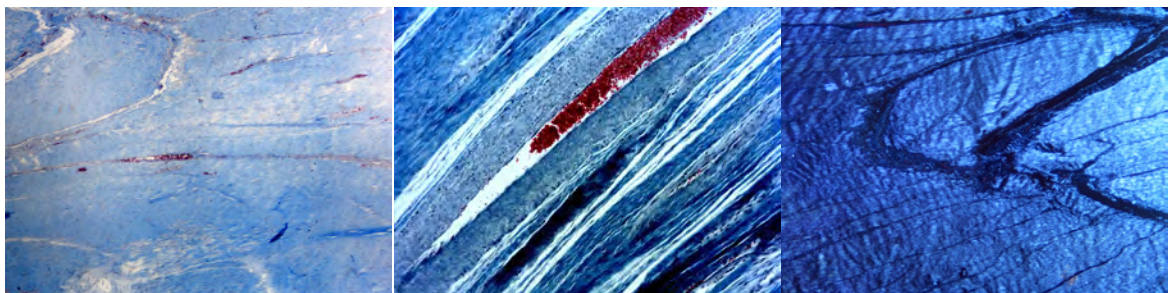


Figura 54. El túnel femoral no estaba ocupado completamente por la plastia. El túnel presentaba una esclerosis. En el túnel encontramos las fibras de colágeno de la plastia rodeadas por tejido fibroso y, en ocasiones, por fibras transversas que con importante contenido vascular y celular.



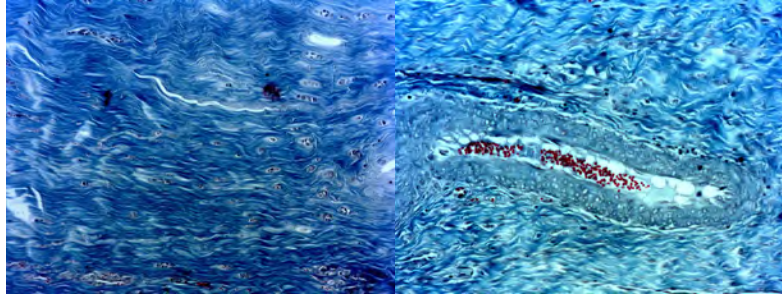


Figura 55. La plastia mostró una estructura de fibras de colágeno paralelas, con espacios entre las mismas que se ocuparon por vasos

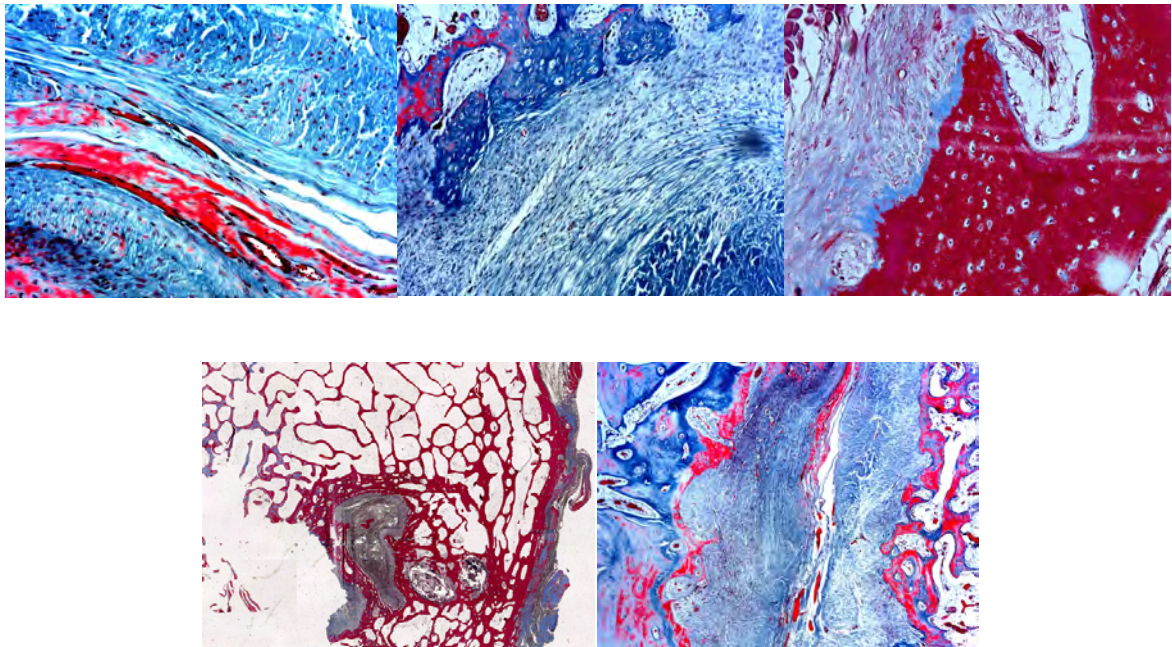


Figura 56. En el túnel tibial observamos la misma estructura, trabéculas neoformadas, con tejido fibroso ocupando el espacio entre la plastia y el hueso con importante contenido celular y vascular.

EVOLUCIÓN 6 MESES

oveja #8264 I

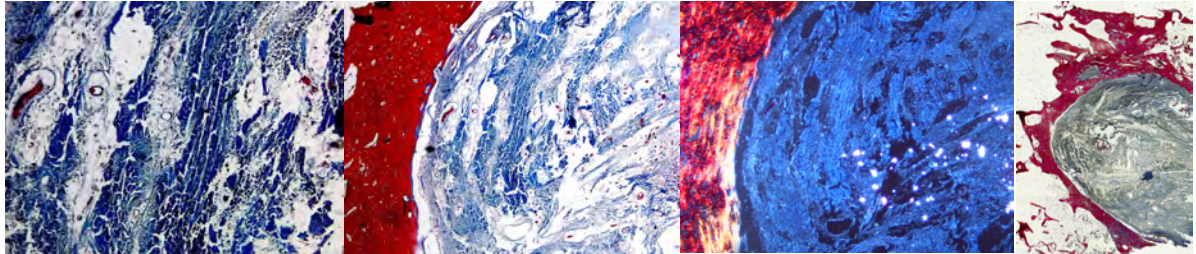


Figura 56. El túnel femoral estaba relleno de tejido fibroso y como en etapas anteriores el espacio entre el hueso y la plastia estaba todo él ocupado por un tejido fibroso laxo con vasos en su interior

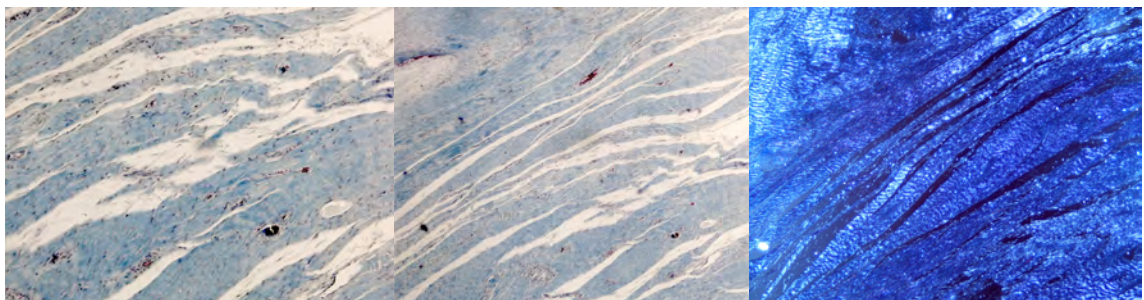


Figura 57. La plastia presentó la imagen de una estructura de colágeno con espacios entre las fibras para la penetración de vasos y células

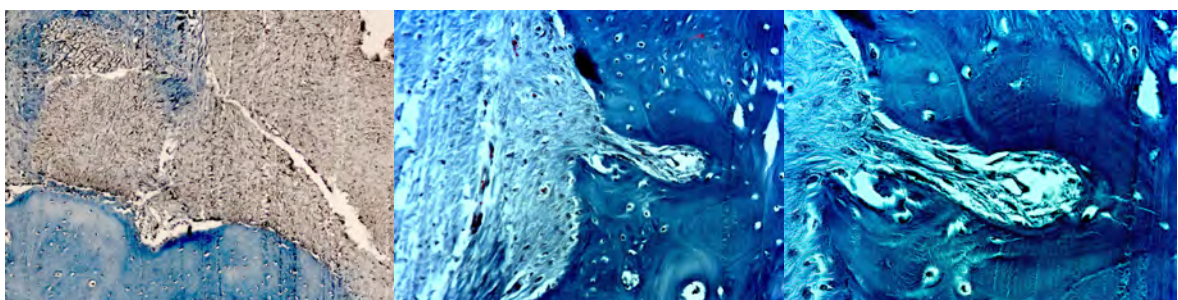


Figura 58. En el túnel tibial se observó un tejido fibroso ocupando el espacio entre la plastia y el hueso aunque vimos zonas de penetración vascular y celular en el tejido óseo que demostró la estrecha relación entre el tejido fibroso y el tejido óseo.

oveja #8342 I

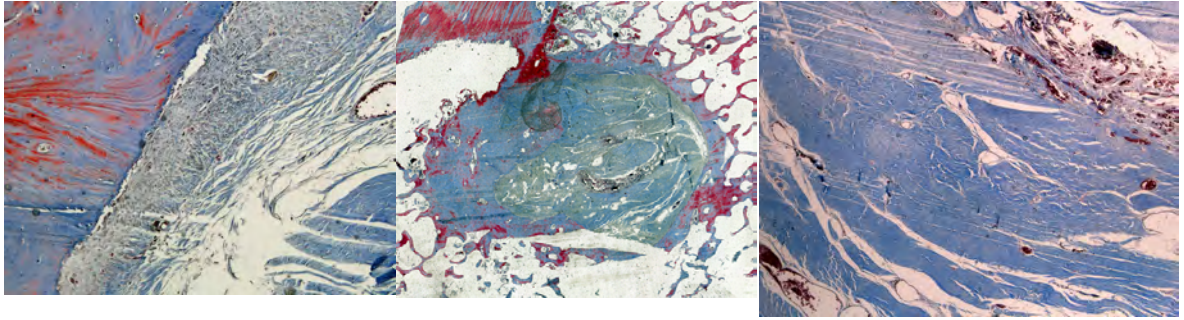


Figura 59. El túnel femoral presentó una plastia separada del tejido óseo por un tejido fibroso

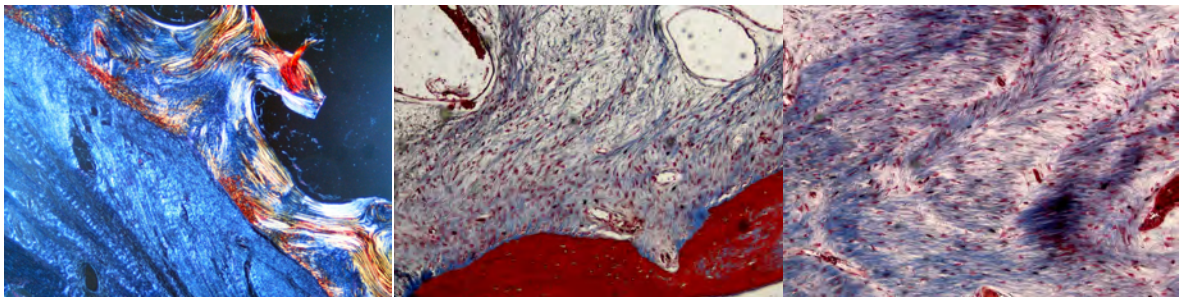
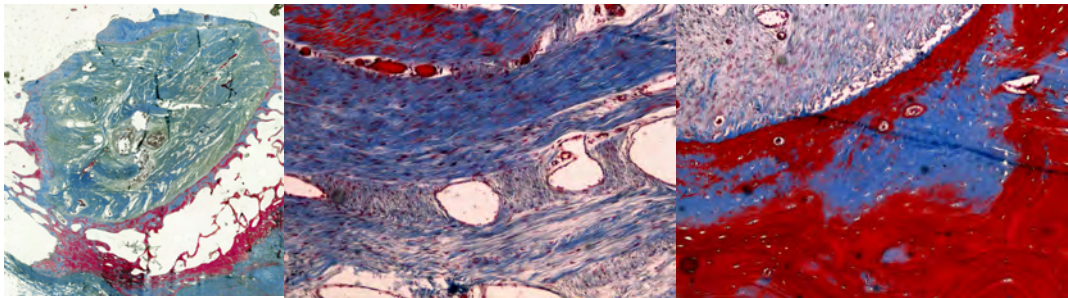


Figura 60. En el túnel tibial se observó tejido fibroso abundante que unía el tejido óseo con la plastia ocupando todo el túnel. El tejido fibroso de relleno era desordenado en unas zonas y mostraba una disposición de fibras paralelas y concéntricas en otras zonas con un importante contenido celular.

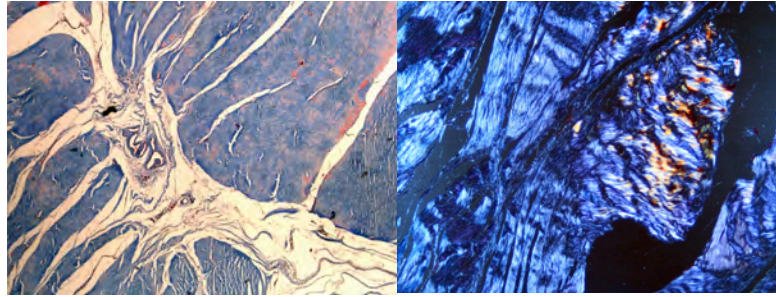


Figura 61. La plastia presentaba una estructura fascicular con septos ocupados por vasos

EVOLUCIÓN 12 meses

oveja #7082 I



Figura 62. A los 12 meses la imagen radiográfica fue buena aunque se apreciaba el túnel por la esclerosis trabecular de sus paredes.



Figura 63. En el túnel femoral observamos una ocupación completa con tejido fibroso y la plastia tenía una estructura fascicular, observando espacios entre los mismos, tanto en la microscopia óptica como con luz polarizada.

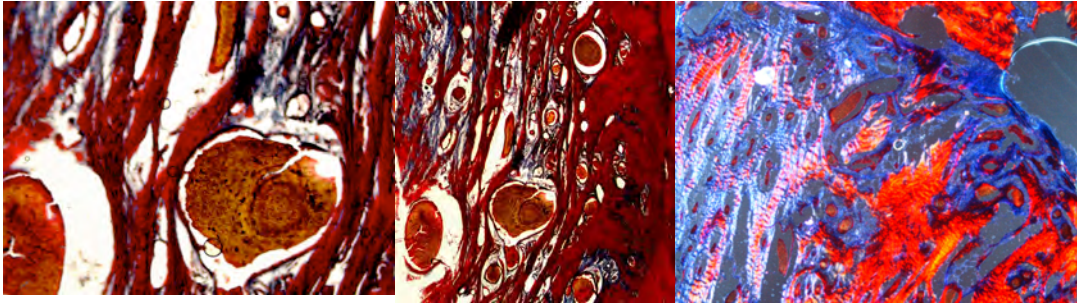


Figura 64. En el túnel tibial se apreció la misma estructura de la plastia, entremezclada con la sutura de seda sin llegar a unirse nunca al hueso.

oveja #6919 I

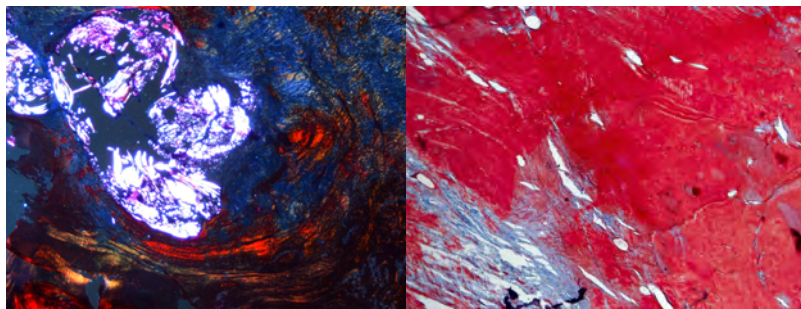


Figura 65. El túnel femoral presentó una plastia que en ningún momento ocupaba el túnel y que estaba rodeado por un tejido fibroso que lo rellenaba.

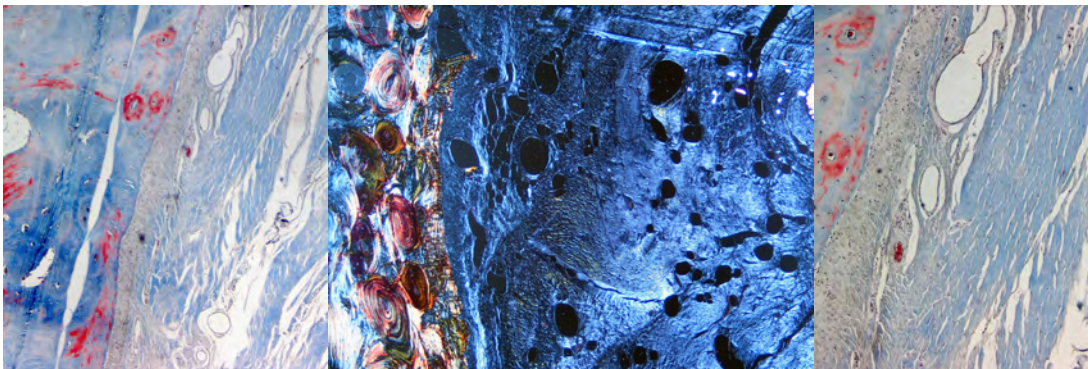


Figura 66. También el túnel tibial presentó un tejido fibroso para rellenarlo.

Resumen plastias de 7 mm

En ningún caso observamos una unión directa de la plastia con el túnel óseo. El tejido fibroso de relleno fue abundante.

La platia presentó una estructura fascicular que se fue acrecentando con el tiempo para permitir la formación de septos interfasciculares y penetración de vasos.

Resultados biomecánica

Los resultados obtenidos se dividieron según el grupo y el tiempo de evolución. Las muestras correspondieron a los siguientes grupos (Tabla 5)

Tabla 5
Resultados biomecánicos de todas las muestras analizadas

Túnel Ø	#	evolución (mes)	Carga máxima (Kg)	Extensión de tracción al máximo carga (mm)	Observación	Módulo (de Young Esfuerzo de tracción 5 % - 80 %) (MPa)
5 mm	9385D	1	13	8	rompe hueso	27,16
5 mm	107 I	3	21	22	bien, fuerte, aguanta bien plastia	27,23
5 mm	3866 I	6	12	11		20,61
5 mm	6858 I	3	12	12		31,02
5 mm	6532 I	6	50	13		68,26
5 mm	6530 I	6	14	47		49,23
5 mm	6908 I	12	20	13		28,42
5 mm	6532D	3	25	29		37,77
5 mm	9406 I	3	16	17		14,98
5 mm	107D	0	5	27	elonga sin romper	8,37
7 mm	6968D	3	98	4		71,44
7 mm	6964 I	6	83	2	se corta LCP	78,79
7 mm	6968I	6	27	2	rodilla osificada	17,98
7 mm	6301 I	12	89	4	sacar grafica	74,72
7 mm	6964D	3	53	4	rompe	38,33

7 mm	8133 l	6	91	5	LCP	44,36
7 mm	3275 l	1	18	5	elongado no rompe	5,85
7 mm	4488 l	6	5	1		7,95

Las plastias de 7 mm, de forma general, necesitan más fuerza de rotura máxima y padecen mayor elongación que las plastias de 5 mm (figura 67).

En la Figura 68, donde se presentan los resultados por tiempo de evolución, mostrando que las plastias de 7 mm, con mayor tiempo de evolución, también requieren mayor fuerza y elongación que las que tienen menor tiempo de evolución.

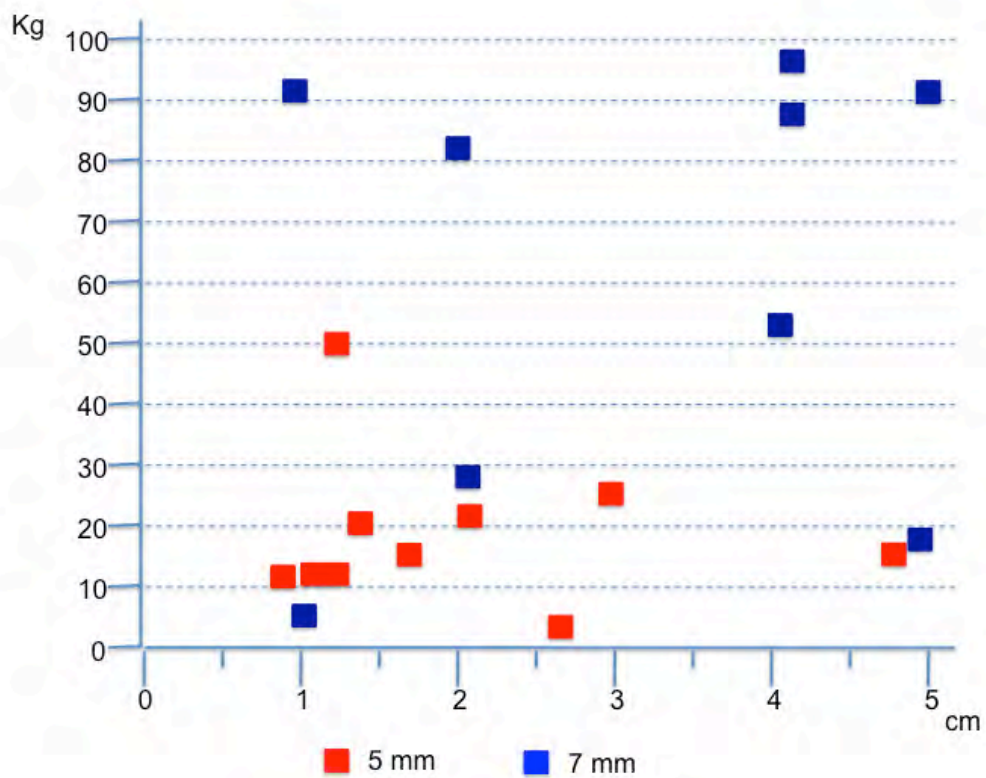


Figura 67. Resultados globales de las plastias en túneles de 5 y 7 mm

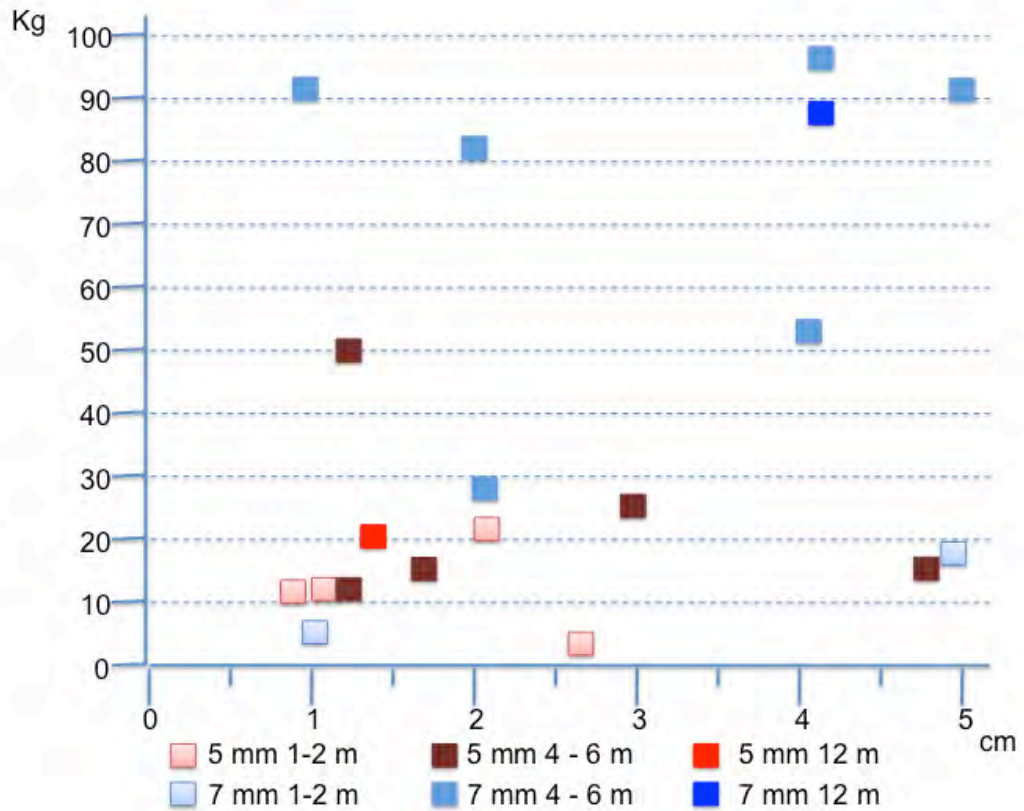


Figura 68. Resultados de las plastias de 5 y 7 mm según el tiempo de evolución.

Al ver las imágenes de las tensiones a las que fueron sometidos las plastias se observó como algunas se salían del túnel íntegras, otras se deshilachan pero ninguna se rompió ni en la inserción tibial ni tampoco en la femoral, lo que nos hizo pensar que es un anclaje elástico constituido por tejido fibroso y que en ningún caso se consiguió una integración completa.

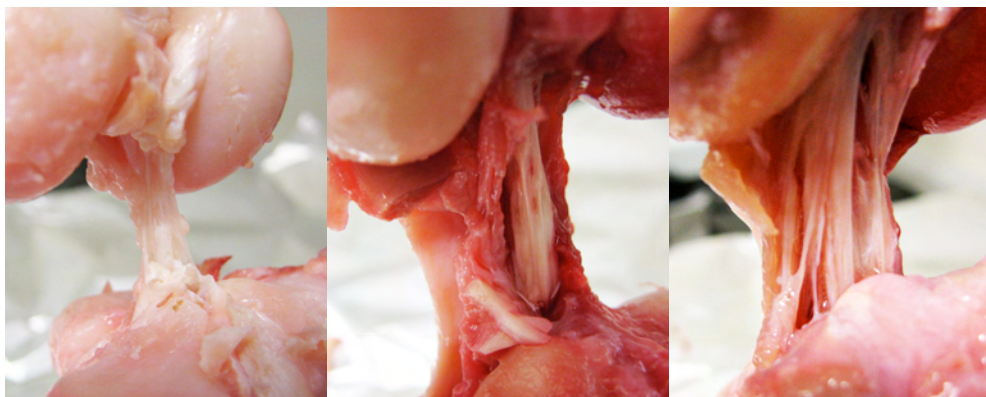


Figura 69. Deshilachamiento de la plastia sometida a tensión

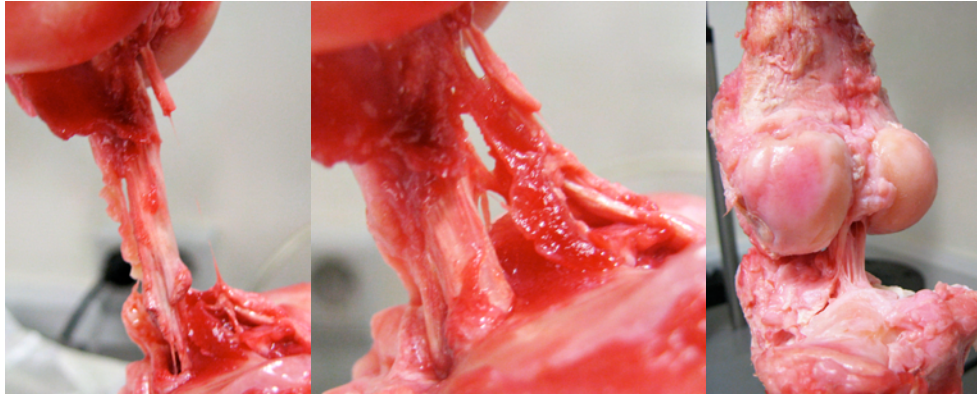


Figura 70. Deshilachamiento de una plastia sometida a tensión

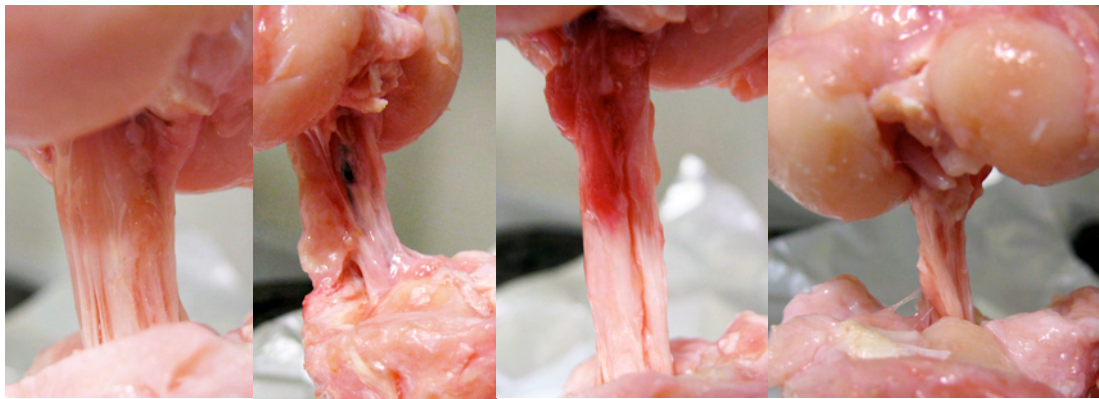


Figura 71. Plastia de forma cilíndrica que recuerda al tendón original y sale del orificio tibial por deslizamiento. sin romper ninguna estructura.

DISCUSIÓN

Modelo experimental

Los estudios experimentales han demostrado que el potencial de reparación del LCA es muy pobre por lo que es necesaria, siempre, una intervención quirúrgica que restaure la estabilidad de la rodilla [26-28][97]. Pero todas las cirugías de reparación de los ligamentos intraarticulares de la rodilla utilizan injertos, de diferente tipo, que requieren la reparación biológica para conseguir la estabilidad mecánica. De aquí la necesidad de una buena integración del injerto en la zona receptora para conseguir una penetración de los vasos que terminen sustituyendo la plastia por un nuevo ligamento del propio paciente.

Son muchas las variables que intervienen en dicho proceso desde la colocación de la plastia, hasta los tipos de fijaciones utilizados. Algunas de estas variables las conocemos otras, por el contrario, nos son todavía desconocidas. Un aspecto que nos interesa es conocer la influencia de la relación de los diámetros del túnel y de la propia plastia para ver como influye en el proceso de reparación, tema poco estudiado en la literatura. No podemos olvidar, especialmente en las plastias de los tendones flexores de la rodilla, que la unión del tendón de la plastia y el hueso del paciente, es el punto más débil y por donde se producirán la mayoría de las roturas después de la cirugía [24][101].

No es de extrañar que se hayan introducido técnicas, como veremos más adelante, para acelerar este proceso de integración y se haya probado en los años más recientes con factores de crecimiento para mejorar la maduración de la plastia y el crecimiento del hueso en el túnel y la integración en los injertos H-T-H aunque los efectos colaterales no son conocidos.

En los estudios experimentales de reparación del LCA el cerdo es el animal más utilizado como modelo experimental [66][74][83][84][120][130] y la mayoría de los estudios experimentales sobre el LCA, en modelos animales, demuestran una reparación biológica temprana con el autoinjerto. La madurez y edad del animal es un factor importante a tener en cuenta.

La reconstrucción del LCA en animales cuadrúpedos siempre producen un aumento de la laxitud comparado con el hombre [61-63][118][139]. Sasaki et al [207] lo efectuaron, en 28 perros, divididos en dos grupos de 14 animales cada uno, una cirugía bilateral de LCA utilizando, también, el tendón del *m. flexor digitorum superficialis* obtenido de la cara posterior e interna de la porción distal de la pierna.

Hicieron un abordaje pararrotuliano interno, exponiendo y resecaando el ligamento. Los túneles fueron de 4 mm de diámetro, pasando por el origen e inserción del LCA.

Cummings et al, [62] han demostrado, en cabras, que las demandas funcionales sobre el ligamento cruzado anterior y el ligamento rotuliano son diferentes, observando que el ligamento rotuliano es sometido a mayores cargas que el ligamento cruzado anterior durante la actividad diaria lo que puede influir, según Johnson et al, [127] en la menor resistencia del ligamento rotuliano con la edad.

Alm et al, [7] estudiaron la resistencia a tensión del ligamento cruzados del perro y normalizaron los datos calculando el índice entre la fuerza y el peso del animal. Obtuvieron índices desde 80 a 95 N/Kg. Noyes et al, [184] obtuvieron índices fuerza/peso comprendidas entre 80 y 118 N/Kg, los monos muestran índices de 119 N/Kg, mientras que especímenes de hombres adultos mayores y jóvenes presentan una relación de 10 y 33 N/Kg respectivamente. La relación en el hombre es muy baja comparada con la del mono y otros animales. Sin embargo, estas comparaciones carecen de interés, pues las demandas funcionales varían dependiendo de la locomoción y no creemos que el peso influya en la constitución de un ligamento. Desde nuestro punto de vista la estructura, orientación fibrilar, tamaño del propio ligamento y su área, son mucho más importante.

Los modelos animales difieren de la reparación en el hombre ya que se ha visto una reparación más rápida en la oveja que en el hombre [71][117][175]. Especialmente el proceso metabólico varía entre el hombre y cualquier modelo animal y esto afecta los cambios en la remodelación del injerto, en la evolución en el tiempo.

Los estudios en modelos animales con roturas de LCA, no se pueden comparar directamente con los pacientes en clínica. El proceso biológico es muy similar, pero la intensidad de remodelación de la plastia en el ser humano es claramente inferior al modelo animal.

Grosor de los túneles en la reparación del LCA

El agrandamiento, entre un 25% y un 100%, del túnel femoral y tibial después de la cirugía de reconstrucción del LCA ha sido descrito por numerosos autores [56] [124][134][143][154][222][244][247]; si bien, en la mayoría de los casos no reflejan una situación sintomática, nos parece que es un hecho destacable y consecuencia de algún problema biológico o mecánico. Aunque no se ha establecido una etiología

concreta, se han implicado a diferentes factores biológicos (inflamación, necrosis ósea por la perforación, líquido sinovial) [56][112] y mecánicos (aumento de la tensión, movimiento de la plastia, distancia de la fijación del injerto a la articulación, rehabilitación agresiva) [82][112] aunque no podemos olvidar que una técnica poco cuidadosa deja que penetre el líquido sinovial en el espacio osteo-tendinoso y desencadena una reacción inflamatoria y un proceso de osteolisis posterior.

Neddermann et al [178] estudiaron el efecto del ensanchamiento del túnel, después de una plastia de LCA, en ovejas, observando que los animales con túneles más anchos no tenían mayor traslación ántero-posterior, con un tiempo de evolución de 6 meses; por el contrario, el ensanchamiento del túnel se relacionaba con mayor rigidez e hipertrofia del injerto y una mayor cantidad de hueso, esclerosis, en las paredes del túnel.

La rigidez es la capacidad de una plastia de soportar una carga y se asocia con la hipertrofia de la plastia durante el proceso de remodelación, descrita por diferentes autores y que se ha relacionado con un túnel más ancho [42][178][121][122][242].

Esto concuerda con diferentes estudios clínicos que han estudiado la relación de la forma y función en pacientes con un túnel ensanchado [4][56][111][243]. Tan solo Webster et al [244] han señalado una correlación entre ensanchamiento del túnel y un aumento de inestabilidad.

Para Neddermann et al [178], el aumento de volumen óseo en la pared del túnel consiste en un anillo esclerótico que aparece, como muy pronto, a las tres semanas de la cirugía. Este anillo esclerótico aumenta y está formado por hueso de nueva formación. No encontraron signos de osteoclastogénesis en la reabsorción asociada con el ensanchamiento del túnel.

El fenómeno del ensanchamiento del túnel se describió en los años 90 asociado con la utilización de injertos liofilizados e injertos H-T-H esterilizados con óxido de etileno [123]. Inicialmente se consideró que se debía exclusivamente a una reacción inflamatoria, con aumento de los macrófagos y de los monocitos, consecuencia de una reacción a material extraño; pero actualmente se piensa que el ensanchamiento del túnel tiene una causa multifactorial producida por factores mecánicos como son los movimientos de la plastia en el interior del túnel, los métodos de fijación, el cizallamiento de la plastia por mala colocación de la plastia y una rehabilitación acelerada. Entre los factores biológicos se ha considerado el

propio proceso inflamatorio del injerto durante el proceso de integración, la penetración del líquido sinovial y el aumento de citoquinas en la articulación de la rodilla [178][247]. En el proceso de reparación, estímulos mecánicos no fisiológicos producen un ensanchamiento del túnel en cierta medida y eso lleva a una incorporación inadecuada de la incorporación del injerto [74].

Para Ekdahl et al [74], la posición anatómica del túnel en la reconstrucción del LCA lleva a una reparación biológica más temprana y a mejores condiciones biomecánicas que cuando la posición no es anatómica. La plastia anatómica tienen menor número de osteoclastos tanto en la parte femoral como tibial, pues los osteoclastos, según estos autores, actúan en el ensanchamiento del túnel estimulando la reabsorción ósea. Rodeo et al [202], utilizando conejos para evaluar las diferencias en la reparación del hueso y del tendón, en la entrada y salida de los túneles, recalca la relación entre la actividad de los osteoclastos y el ensanchamiento del túnel. En su estudio demostró que el índice de reparación fue mucho más lento en la parte articular del túnel comparado con la parte media y la extraarticular y encontró una correlación inversa entre el movimiento del injerto con el túnel y la reparación en el túnel femoral.

En nuestro estudio hemos visto, en todos los casos, una esclerosis de los túneles, posiblemente relacionada con la temperatura y velocidad de la perforación, el tipo de broca, pero pensamos que es más una consecuencia de la reacción trabecular frente a los movimientos de la plastia. Nunca hemos observado un número llamativo de osteoclastos en este área.

Los estudios basados en la isometría han demostrado la posición del túnel femoral alto, en la escotadura intercondílea, en una posición poco anatómica [60] y a menudo el túnel tibial se coloca ligeramente posterior [57][115][173][223] para poder alcanzar la pared posterior para situar al túnel femoral (BROPHY) y evitar el pinzamiento de la plastia [116]. Estas recomendaciones sitúan el túnel tibial en la inserción del fascículo PL en la huella del LCA [257]. Por esto algunos autores consideran que la técnica monofascículo convencional para la reconstrucción del LCA es una técnica poco anatómica [130]. Sin embargo, a pesar de ser una técnica “no anatómica” no podemos olvidarnos que bien utilizando H-T-H o tendones de los isquiotibiales autólogos se consigue una muy buena estabilidad, una elevada satisfacción subjetiva de los pacientes y un bajo índice de revisiones [148] con buenos resultados funcionales, a medio y largo plazo.

Fijación del injerto

La fijación de una plastia tendinosa es el punto mecánico más débil, y por lo tanto de rotura, en la reconstrucción del LCA durante las primeras semanas hasta que se obtenga la integración del injerto en el interior del túnel óseo. Debe de resistir las tensiones que se generen sobre el injerto durante la marcha y los ejercicios de rehabilitación precoces necesarios para obtener un buen resultado.

La fijación será distinta según los extremos sean óseos o tendinosos y en este aspecto la unión entre hueso parece ser la más rápida y resistente, siendo éste uno de los argumentos más sólidos para utilizar injertos HTH. Sin embargo, en los últimos años se han desarrollado nuevos dispositivos que proporcionan mayor solidez a la fijación del tendón en un túnel óseo, eliminando la necesidad de la inmovilización postoperatoria. Si bien las fijaciones corticales han demostrado una gran resistencia de los anclajes de los injertos tendinosos en los ensayos biomecánicos [154]; la gran longitud de tendón que queda entre los puntos de fijación ha dado lugar a movimientos de pistoneo y campaneos que pueden ser responsables de imágenes de ensanchamiento de los túneles óseos. Actualmente hay una tendencia a fijar los injertos lo más cerca posible de la superficie articular, comprobando menor incidencia de túneles ensanchados.

La fijación ideal para los injertos con extremos óseos H-T-H es el tornillo interferencial. La posibilidad de realizar RMN postoperatorias, el menor daño al injerto y la facilidad que aporta cuando es necesaria una cirugía de revisión favorece la utilización de tornillos interferenciales biodegradables, compuestos de ácido poliláctico y fosfato tricálcico, que mantienen sus propiedades biomecánicas hasta la consolidación de los tacos óseos, siendo posteriormente sustituidos por el tejido óseo circundante gracias a sus propiedades osteoconductoras. El terrajado del túnel óseo es en estos casos imprescindible para un buen agarre del tornillo y evitar su rotura [237][238].

Para la fijación de los tendones IT existen múltiples opciones, lo que hace sospechar que ninguna de ellas es la ideal. Las fijaciones transversales han mejorado notablemente la solidez del anclaje femoral de los tendones y son actualmente las más utilizadas. En la tibia son más difíciles de utilizar y la mayoría de los autores recurre a una doble fijación con tornillos interferenciales y grapas corticales sobre los tendones. Finalmente, es interesante mencionar que algunos dispositivos de fijación transversal están diseñados para su utilización

indistintamente con ambos tipos de injertos y que la fijación femoral de los injertos HTH proporcionan la misma solidez que los tronillos interferenciales, pudiendo ser de gran ayuda en aquellos casos en los que se haya producido una rotura de la pared posterior del túnel femoral o en casos de cirugía de revisión [259].

Reparación e integración del injerto tendinoso

Razones biológicas explican la dificultad que tiene un ligamento cordonal como es el LCA rodeado por un ambiente sinovial para cicatrizar manteniendo sus propiedades biomecánicas. La experiencia clínica ha avalado la ineficacia de las suturas en varias series publicadas incluso con casos aleatorizados en los que la única diferencia apreciable respecto al tratamiento conservador es una menor incidencia de signos del pívote [206]. Sólo con algunos tipos de rotura seleccionadas en pacientes con fisis abiertas o bajas demandas funcionales se consideran ciertas técnicas de estimulación de la cicatrización [224]. En pacientes adultos, con altas exigencias, el tratamiento quirúrgico debe ir encaminado a la sustitución del LCA roto por un injerto que lo reemplace anatómica y biomecánicamente. Hay dos métodos principales de reconstrucción autóloga del LCA, intra y extrarticulares, y en algunas ocasiones, se ha utilizado una combinación de ambos. Las técnicas intrarticulares actúan sobre la tibia intentando simular al LCA mientras que las técnicas extrarticulares lo hacen a cierta distancia de la inserción del ligamento cruzado anterior.

La elección del injerto ha producido un gran número de trabajos sin que exista por el momento unanimidad a este respecto. Se han descrito métodos con injertos autólogos para reconstruir el ligamento cruzado anterior utilizando tendón del músculo semitendinoso [52][149][260] y también del recto interno [149][72] o ambos tendones de la pata de ganso [150][239][248], así como el tracto iliotibial y fascia lata [35][76][110][119][153][155][188][191][261] o el tendón rotuliano [6][22][40][49][79][128][144][164]. Son técnicas que generalmente ofrecen buenos resultados pero dañan siempre una estructura no lesionada. Actualmente, el tercio central del tendón rotuliano autólogo sigue siendo el injerto más utilizado para la reparación del LCA y el patrón con el que deben compararse los demás injertos. Efectivamente, este injerto fue el preferido por el 79,1% de los 249 cirujanos que participaron en una encuesta realizada, en 2003, sobre el tratamiento de las lesiones del LCA [160]. En un estudio similar que había llevado a cabo unos años antes la Asociación Española

de Artroscopia el porcentaje de injertos rotulianos autólogos usados en nuestro país fue del 71% [20].

Ateniéndonos a razones biomecánicas, tanto el tercio central del tendón rotuliano (HTH) como el injerto formado por cuatro fascículos de tendones isquiotibiales (IT) presentan en el laboratorio una resistencia suficiente, siempre que los cuatro fascículos de los tendones de la pata de ganso se hayan tensado con la misma intensidad, lo cual técnicamente es importante y no siempre fácil de conseguir. Beynonn et al [27] recogen trece trabajos prospectivos y aleatorizados que comparan ambos sistemas sin que los resultados puedan inclinar la balanza en uno u otro sentido. Sólo cabe destacar en la mayoría de ellos un mayor dolor al arrodillarse en aquellos pacientes que recibieron un injerto de tendón rotuliano. No había diferencias en cuanto a la estabilidad ántero-posterior ni tampoco en la actividad. El dolor anterior de rodilla apareció en ambos grupos sin poder extraer conclusiones.

En un meta-análisis incluyendo once trabajos las diferencias encontradas entre los dos tipos de injerto se limitaron a una mayor probabilidad de tener una rodilla con estabilidad normal usando el tendón rotuliano a costa de un mayor índice de molestias al arrodillarse [96]. Por otro lado, el sacrificio de los isquiotibiales, sinérgicos del LCA para impedir la traslación anterior de la tibia, no se puede considerar intrascendente a pesar de que algunos autores demuestren una regeneración parcial que conlleva la pérdida de fuerza flexora en estos casos [3] y que puede traducirse en la vida cotidiana por la dificultad que presentan algunos pacientes para “quitarse las botas”.

Aunque son la mejor elección en rodillas con múltiples lesiones ligamentosas o multioperadas, los aloinjertos de tendón rotuliano se presentan también como una opción válida para la reconstrucción aislada del LCA. Por una parte, evitan gran parte de los inconvenientes mencionados del injerto autólogo en relación con la zona dadora, incluido el cosmético, resuelven el problema cuando la calidad del tendón autólogo no es buena y disminuyen el tiempo quirúrgico y de recuperación. Entre sus inconvenientes se mencionan el riesgo remoto pero posible de transmitir una enfermedad infecciosa, la mayor lentitud en su incorporación que eleva el riesgo de roturas y las posibles reacciones inmunológicas responsables del ensanchamiento de los túneles. Los estudios comparativos publicados no han podido demostrar diferencias entre estos dos tipos de injertos [197] y ésto ha impulsado a algunos

autores a utilizarlo de forma rutinaria. Bach et al [23] señalan que el uso de aloinjertos ha ido en aumento progresivo. Entre 1986 y 1996, la reconstrucción primaria con aloinjertos era del 2%; entre 1996 y 2001, aumentó al 14% y entre 2002 y 2005, ha alcanzado el 36%.

Además de los autoinjertos y aloinjertos, para sustituir el ligamento cruzado anterior también se han utilizado xenoinjertos [167] y durante un tiempo, aunque actualmente están en desuso, se han utilizado como medio de refuerzo los injertos biológicos y las prótesis sintéticas de distintos componentes como nylon [47], ácido poliglicólico trenzado [45][46]; Dacron [95]; polietileno Poliflex® [29][132]; polietileno tereftalato (ligamento Leeds-Keio®) [90][91]; Trevira® [171]; politetrafluoretileno (Gore-Tex®) [31][190]; polipropileno (Kennedy-Lad®) [132][168] y de fibra de carbono. Sin embargo, los implantes sintéticos se deforman plásticamente y se elongan de forma permanente a una fuerza que es la mitad de la fuerza de rotura máxima de los ligamentos rotulianos obtenidos en adultos mayores y un cuarto de los especímenes de adultos jóvenes [125][182].

Diferentes injertos pueden cumplir los requisitos necesarios para sustituir al LCA y proporcionan igual grado de satisfacción subjetiva. No deberíamos encasillarnos en una única técnica y es conveniente tener en cuenta cual es el tipo de plastia más apropiado para cada individuo. De modo orientativo, los injertos H-T-H son más adecuados para pacientes con niveles altos de actividad y deportistas ya que buscan una estabilidad por encima de otras consideraciones mientras que los IT están más indicados en pacientes menos motivados, con bajas demandas deportivas o que requieren una mayor elasticidad articular (bailarinas). En aquellas laxitudes crónicas en las que ya están comprometidos los estabilizadores secundarios, es preferible utilizar un injerto más rígido como es el H-T-H. Los aloinjertos en la cirugía primaria están más justificados cuando el paciente presenta problemas para la toma de injertos autólogos (tendinitis, secuelas de Osgood-Slatter, etc), si se necesita acortar el periodo de baja laboral o por motivos estéticos. Dada su alta tasa de complicaciones, no existe por el momento ninguna indicación para los ligamentos artificiales [237].

Hadjicostas et al [104] estudiaron la estructura de los injertos utilizados para reconstruir el LCA más frecuentes. Partieron de la idea de que el LCA tiene una estructura única, tanto macroscópicamente como histológica y ultraestructuralmente, que no puede ser reemplazada por ningún otro tendón o ligamento.

Los fibroblastos tienen una función principal en el proceso de regeneración y remodelación. Ferreti et al [84] realizó un estudio histológico de tres plastias de semitendinoso, entre 6 meses y dos años de evolución. La muestra de 6 meses demostró una proliferación fibroblástica pero con una desorganización de las fibras de colágeno. Las dos muestras de dos años revelaron una buena orientación de las fibras y encontraron células fusiformes. Por su parte, Cooper et al [60] vieron que los fibroblastos tendinosos proliferaron más rápidos que los fibroblastos del LCA, señalando Petersen et al [194] que la densidad de fibroblastos incide negativamente en las propiedades mecánicas del tendón.

Durante la reparación tisular, los factores de crecimiento estimulan la proliferación de fibroblastos y la síntesis de fibrillas de colágeno de tipo I y III. En fases iniciales de la reparación ligamentosa se produce más colágeno III que de tipo I. El LCA presenta el menor porcentaje de colágeno tipo I, pero la mayor de tipo III y V. La presencia de colágeno tipo I se ha relacionado con la resistencia a tensión [59] [151][158][172][193][199][221][228]. El LCA muestra la mayor concentración de fibras elásticas debido a las tensiones que debe soportar en las diferentes direcciones del espacio.

Attia et al [21] estudiaron la expresión génica de diferentes factores en el ligamento cruzado anterior del conejo seccionado y sin reparar. Analizaron MMP-1, MMP-13, α -SMA (alfa smooth muscle actin), colágeno I y colágeno III. Las MMP son factores importantes en la remodelación de los ligamentos, el α -SMA es una actina altamente contractil que se expresa en diferentes líneas de fibroblastos conocidos como miofibroblastos.

Los miofibroblastos se han identificado como una célula fundamental para reorganizar la matriz extracelular durante la remodelación tendinosa temprana [176] [177][245]. Estas células se han identificado en el LCA humano, intacto y roto y se ha postulado como responsables parciales de la ondulación de las fibras de colágeno [177]. Weiler et al [245] demostraron miofibroblastos en el LCA de la oveja y señalaron que afectan directamente la remodelación de los injertos ejerciendo una fuerza de contracción en la matriz extracelular y se les ha propuesto como responsables de la ligamentización. Dustmann et al [71], al contrario que lo señalado previamente, no encontraron una asociación entre el aumento de la densidad de miofibroblastos y la contracción del tejido pero hallaron una ondulación de las fibras de colágeno más largas en el autoinjerto a las doce semanas. Los cambios en la

expresión de los miofibroblastos y el patrón de ondulación entre el auto y el aloinjerto no afecta las propiedades estructurales de estos injertos hasta un año después de la cirugía.

Los miofibroblastos se activan después de una lesión y tienen una función en la contracción de la herida y en la remodelación de la matriz pericelular [175][232][246]. Por su parte, la α -SMA es una proteína mecanosensitiva que puede actuar en la mecanotransducción. El colágeno I es el colágeno prevalente en el ligamento normal y se sintetiza y disminuye su producción durante la homeostasis normal del ligamento mientras que el colágeno III es un marcador de la formación de cicatrices después de la lesión de un ligamento. En sus resultados manifiestan que el LCA contiene fibroblastos que responden a las cargas mecánicas. Cuando la tensión mecánica sobre el LCA desaparece, los fibroblastos llevan a una contracción de la matriz de los miofibroblastos con un aumento secuencial de MMP-1 y MMP-13. El LCA, además, muestra una respuesta de reparación después de su sección como se puede ver por la expresión tanto de colágeno I como colágeno III. Vieron, además, un aumento de la expresión de α -SMA en respuesta a la desaparición de la tensión. Esta sobreexpresión sugiere una actividad colagenolítica unida a la contracción de los miofibroblastos que se produce después de una contracción del LCA después de una rotura o un daño experimental.

Diferentes estudios han demostrado que en tejidos muy variados como ligamentos, tendones, vasos o piel hay un efecto directo de la tensión mecánica sobre la expresión de los componentes de la matriz extracelular producida por las células. La expresión de colágeno I y III están presentes en el ligamento inmaduro y en la cicatriz ligamentosa y está sobreexpresada en el proceso de remodelación e incorporación de las plastias de LCA [8][228]. Las integrinas también pueden responder en función del ciclo de deformación. El patrón de las integrinas varía en el LCA normal y en el lesionado. En el LCA intacto las integrinas dominantes son α -v, β -1 mientras que en el lesionado hay una disminución de α -v, α -1 y un aumento de β -1, β -3, α -5. Cuando las células de un LCA roto o intacto crecen en un medio con una matriz aumentan en ambos casos las integrinas β -3, β -1, α -v [21].

Ekdahl et al [74] y Walsh et al [241][242] consideran una correlación positiva entre la densidad de vasos y la resistencia del injerto. El estudio de Hadjicostas et al [104], ha demostrado que el LCA tiene la mayor concentración de vasos y se ha demostrado una correlación entre la tensión de un tendón y su vascularización [246].

Weiler et al [245] vieron en un modelo animal que cuando la vascularización de una plastia disminuye se produce un aumento de su resistencia a la tensión. También, Yoshikawa et al [255] demostraron que la angiogénesis en las plastias del LCA reducen su resistencia del injerto aumentando la laxitud articular.

Sin embargo, las referencias no están todas de acuerdo con la relación del diámetro de las fibras de colágeno y la resistencia del tendón. Parry et al [193] mantienen que las fibras grandes son mecánicamente más fuertes que las pequeñas debido a la mayor densidad intrafibrilar de uniones covalentes de colágeno en las fibras grandes. Otros autores [75] sostienen que el diámetro las fibras de colágeno no pueden predecir, por sí mismas, el material y las propiedades estructurales de un tendón. En este sentido se ha establecido una correlación entre la disminución del diámetro medio de las fibras de colágeno con una pérdida de las propiedades mecánicas en la reparación y remodelación de los ligamentos y los tendones [25] [46][93]. La mayoría de los autores lo atribuyen al aumento de la producción de colágeno de pequeño diámetro asociado con un aumento de síntesis de colágeno tipo III [37][214].

Todos los tendones estudiados, a excepción del ligamento rotuliano, muestran un alto índice de fibrillas / intersticio comparado con el LCA. Un alto porcentaje de las fibras de colágeno en los tendones se puede atribuir a la resistencia de este tejido y puede ser importante para definir la capacidad biomecánica del injerto tendinoso [50].

El LCA muestra un porcentaje muy alto de fibrillas elásticas, fibroblastos y vasos y un índice relativamente bajo entre fibrillas e intersticio. Por el contrario el tendón del músculo semitendinoso muestra una elevada densidad de fibroblastos y vasos mientras que el recto interno tiene el índice más alto entre intersticio y fibrillas [104].

La unión tendón - hueso se consigue a los 12 semanas con una interfaz fibrosa y fibras perpendiculares de colágeno (fibras de Sharpey) anclando el injerto a la pared del túnel [74]. Durante el proceso de integración el tejido se debilita gradualmente con disminución de las propiedades estructurales, incluyendo la resistencia y el punto de rotura.

Biomecánica de las plastias para la reconstrucción del LCA

El ligamento cruzado anterior, como la mayoría de los tejidos blandos, presenta un comportamiento viscoelástico que muestra la capacidad del ligamento para atenuar las rápidas deformaciones, cuando es solicitado.

Los estudios clínicos han demostrado un aumento temporal en la laxitud articular de la rodilla durante los primeros meses de la reparación y queda así para el resto de la vida [28][85][86][226]. El aumento en la laxitud de la rodilla se ha correlacionado con un descenso de las propiedades mecánicas del injerto en modelos animales [26][102].

La determinación de la relación entre la tensión y el desplazamiento de los ligamentos y tendones no es sencillo pues requiere el conocimiento de las posibilidades de los equipos disponibles antes de determinar los objetivos del estudio. En cualquier caso, los resultados estarán restringidos tan solo para las condiciones determinadas en las que se realizó el estudio, que deberán ser expresadas junto a los resultados.

Burks et al [41] vieron que la tensión aplicada para reproducir la laxitud ántero - posterior fisiológica es diferente según el tipo de injerto. Eagar et al [73] demostraron que diferentes tipos de fijación y la resistencia inherente altera la cantidad de tensión necesaria para aplicarla a una plastia y reproducir la laxitud ántero - posterior. Grover et al [103] determinaron que la fricción, el tipo de fijación y las cargas cíclicas alteran la tensión intraarticular aplicada o restante en el injerto, lo cual modifica la traslación anterior máxima.

La naturaleza viscoelástica de los injertos produce una pérdida de tensión inherente en el tiempo, por lo que Conner et al [58] sugieren que puede ser necesario aumentar la tensión aplicada al tendón durante la cirugía para restaurar la estabilidad de la rodilla.

En esta línea, Arnold et al [19] observaron que el injerto puede ser tensionado y asegurado en un grado de flexión determinado tan grande como la tensión fuese corregida para ese ángulo de flexión. Recomendaron que colocando el fémur en su posición ideal, el injerto debía tensionarse con una fuerza de 10 N a 10° de flexión; cuando la tensión parecía aumentar mucho en extensión, había que aplicar una tensión entre 40 y 60 N en hiperextensión.

En pruebas en rodillas de cadáveres con un manipulador robotizado, Mae et al [156] encontraron que la cinemática normal de la rodilla se replicó mucho mejor

utilizando una plastia de isquio-tibiales tetrafasciculada tensionada a 44 N a 20° de flexión. Pero no podemos olvidar que los sistemas de fijación también tienen un límite de resistencia. Grover et al [103] recogieron fuerzas de 82 a 243 N aplicadas en extensión completa con tendones extensores bovinos para restaurar la estabilidad de anterior a posterior. Eagar et al [73] vieron que una fuerza a 25 N con un sistema de fijación con una resistencia superior a 94 N/mm² son los que reproducen mejor la estabilidad de la rodilla sin necesidad de injertos de isquio-tibiales tetrafasciculados. Con un injerto H-T-H, Brady et al [37] encontró que tensiones bajas (1 a 15 N) son las que mejor reestablecen la cinemática articular.

En un ensayo clínico, Yasuda et al [254] no encontraron diferencias significativas en la estabilidad articular entre 40 y 80 N pero vieron que había diferencias significativas entre 20 N y 80 N cuando se tensa una plastia de isquiotibiales tetrafasciculada a 30° de flexión.

El fascículo antero-medial del ligamento cruzado anterior del cerdo muestra, según Kwan et al, [142] un comportamiento viscoelástico. La característica de la relajación de la tensión ayuda a reducir el riesgo de lesión del ligamento en el caso de una deformación estática prolongada. El proceso de relajación, aparentemente largo y lento, del fascículo antero-medial del ligamento cruzado anterior es muy similar al mostrado por el ligamento lateral interno [144][250-252] para mantener la estabilidad mecánica de la rodilla durante las sollicitaciones dinámicas.

Butler et al [43][44] vieron que el punto de rotura y la resistencia del injerto del injerto a las 7 semanas caen un 16% y un 24%, respectivamente, con relación al control. Al año, estas propiedades estructurales del injerto mejoran un 39% del fallo del control y un 57% de la resistencia sin llegar nunca a los LCA control.

Algunos estudios han comparado las propiedades mecánicas del ligamento cruzado anterior y del ligamento rotuliano [9][42-44][184]. Butler et al [43][44] concluyen que el módulo y la tensión de rotura del ligamento rotuliano humano eran 86 y 88% mayores que las del ligamento cruzado anterior. Noyes et al [184] encuentran que la tensión a rotura del ligamento rotuliano humano es un 51% superior a la del fascículo anterior. Por su parte, Yamamoto et al, 1989, estudiando el ligamento rotuliano del conejo concluyen que su resistencia a tensión era de 56 MPa. Woo et al [251] encontraron que el módulo del ligamento cruzado anterior del conejo era de 516 MPa, con un índice de extensión de 0,17 mm/s. El mismo grupo de trabajo obtuvo diferencias entre ambas estructuras observando que el módulo del

ligamento rotuliano era un 89% mayor que el del ligamento cruzado anterior [65]. Estudios histológicos y bioquímicos corroboraron que el ligamento rotuliano del conejo contiene menos células y posee una menor actividad metabólica que el ligamento cruzado anterior [8].

El tendón del músculo del recto interno es entre un 54 y un 69% más pequeño, en su área de sección, que el del semitendinoso [184]. Por ello, cuando los fascículos del semitendinoso y del recto interno se tensionan por igual, aumenta la tensión por unidad de superficie del tendón del recto interno.

El grado de flexión articular y la cantidad de tensión aplicada sobre el injerto son aspectos que se efectúan de forma empírica. Si el injerto se queda "muy suelto", no desaparecerá la laxitud articular anormal en sentido antero-posterior. Conseguir esta estabilidad y eliminar el "pivot shift" son los indicadores de un buen resultado quirúrgico. Si, por el contrario, la tensión del injerto es mayor que la del LCA original tendrá graves consecuencias pues habrá una destrucción del propio injerto, pobre vascularización, degeneración mixoide y propiedades mecánicas inadecuadas, subluxación posterior de la tibia y una extensión incompleta de la articulación.

Markloff et al [163] demostraron que la tensión del LCA normal es despreciable durante la flexión de la rodilla entre 10° y 90°, pero aumenta cuando la rodilla está en extensión alcanzando entre 50 y 240 N, con 5° o en hiperextensión. También se ha visto que una hiperflexión crea fuerzas muy superiores a las de la hiperflexión. Arnold et [19] evaluaron el LCA normal y encontraron patrones similares con una media de 70 N a 5° de hiperextensión (rango entre 35 a 130 N), fuerzas muy pequeñas en rangos de flexión media y la mitad de las fuerzas obtenidas en hiperextensión con la hiperflexión. Estos estudios demuestran que el LCA no es isométrico y que la cantidad de tensión aplicada al injerto varía según el ángulo de flexión de la rodilla. Muchos cirujanos prefieren para tensionar un injerto hacerlo en extensión completa o en extensión para evitar la sobretensión cuando la rodilla se coloque en hiperextensión [11][12][14].

Como se ha señalado, en el LCA normal, las fibras antero-mediales se tensan en flexión y las postero - laterales lo hacen en extensión [11]. Además, el fascículo póster - lateral es más largo en extensión completa y después se destensa cuando la flexión alcanza 90°. El fascículo ántero - medial se destensa entre los 0° y los 30° y después se va tensando al aumentar la flexión [11]. Kurosawa et al [141]

estudiaron las fuerzas del LCA con galgas extensiométricas y vieron un comportamiento muy semejante de ambos fascículos.

Wallace et al [240] midieron in vivo una plastia de pata de ganso con cuatro fascículos, con un tensiometro, después de la fijación en el fémur y vieron que la tensión entre el fascículo anterior y posterior durante la movilidad pasiva es parecida a la del LCA normal, alcanzando una tensión máxima de 296 N.

Jackson et al [122][123] han descrito que un aloinjerto trasplantado presenta una resistencia máxima del 25% de la resistencia del ligamento normal contralateral .

Liu et al [151] compararon las fuerzas de rotura del ligamento cruzado anterior, del ligamento rotuliano y de un injerto hueso-tendón flexor de la rodilla-hueso obtenidos de 79 rodillas de cerdo, siendo de 1266 ± 250 N; 663 ± 192 N y 354 ± 92 N respectivamente, en un intento de utilizar los injertos contruidos a partir de los flexores de la rodilla, utilizando conjuntamente los tendones del m. semitendinoso y m. recto interno que consiguen aumentar su resistencia a la tensión entre un 238% y un 250% con relación al ligamento cruzado anterior [15][116][162] o cualquier otra modificación que ofrece, según estos autores, la ventaja sobre el injerto de ligamento rotuliano de presentar una sección más ancha, ser más homogéneo en sus propiedades mecánicas y parecidas a las del ligamento cruzado anterior que, además, no se ven influenciadas por la edad. En el trabajo de del Corral et al [68] los valores de rotura máxima media 1707 N, en el cordero, del ligamento rotuliano muy superior al obtenido por Liu et al [151] en el cerdo.

La variabilidad de los resultados puede ser debida a la forma de medir el área de sección o a las diferencias en la sección de los diferentes espécimenes. Algunos grupos utilizan calibres y asumen que el ligamento tiene una sección rectangular [109] mientras que otros utilizan micrómetros de presión constante [44]. Además de los diferentes aparatos utilizados para medir, las diferencias en el cálculo del área produce variaciones en el módulo de elasticidad y resistencia a la tensión última. Los espécimenes que presentan un mayor sección presentan una carga menos uniforme con el resultado de un módulo y resistencia menores. También el medio en el que se realiza el ensayo produce variaciones, por ejemplo, los ligamentos ensayados en un baño salino tienen un módulo de elasticidad mucho mayor y presentan una resistencia mucho mayor pero valores de deformación mucho menores que los que se ensayan en un goteo salino [109]. También la localización de los puntos elegidos

para medir las deformaciones tienen su influencia sobre los valores del módulo de elasticidad [252].

Amis y Jakob [12] miden las deformaciones de los fascículos del ligamento cruzado posterior colocando los bloques óseos en las mordazas de tal forma que las fuerzas actúen a lo largo del eje del fascículo ligamentoso a una velocidad de 1000 mm/min para obtener un índice elevado de deformación (aproximadamente 50%/seg), lo cual favorece que la rotura del ligamento se produzca sin avulsión ósea [185]. El desplazamiento mordaza-mordaza es más representativo que la extensión hueso-hueso para conocer la variación de la longitud de las fibras ligamentosas consideradas como un todo [12].

Butler et al [44] estudiando las propiedades mecánicas del ligamento cruzado anterior, ligamento cruzado posterior y ligamento lateral externo humanos encontraron que tienen un módulo de elasticidad, una resistencia a la tensión y una densidad de energía de deformación semejantes pero diferían, de forma considerable, del ligamento rotuliano. Por su parte, Woo et al [251] encontraron que las propiedades mecánicas del ligamento lateral interno del conejo maduro son diferentes de las porciones, antero-interna y antero-externa, del ligamento cruzado anterior. El módulo de elasticidad y la resistencia a rotura para el ligamento lateral interno eran significativamente mayores que en cualquier porción del ligamento cruzado anterior.

Las diferencias mecánicas encontradas entre los diferentes ligamentos viene dada por la disposición de las fibras de colágeno que resisten las fuerzas a tensión. La función, en el comportamiento mecánico, de los proteoglicanos y el colágeno y del colágeno con el colágeno son más difíciles de explicar. Sin embargo, estos complejos, unido a la composición bioquímica y a las características celulares y ultraestructurales pueden explicar las diferencias en la relación tensión-deformación existente entre los diferentes ligamentos [250].

Las fuerzas a las que está sometido un injerto de ligamento rotuliano son mayores cuando se colocan con 30° de flexión aunque Rauch et al [200] no encontraron correlación entre la edad o causas de la muerte del paciente y la resistencia mecánica siendo el valor obtenido por Holzmüller et al [114] de 1429 ± 373 N.

Las propiedades mecánicas de tejidos conjuntivos son controladas, en gran parte, por el colágeno y sus formas poliméricas y el número de fibras que se oponen a las fuerzas de tracción, sus propiedades mecánicas y organización arquitectural . En muchos estudios, la masa de colágeno por peso seco (concentración de colágeno) se ha relacionado con las propiedades mecánicas [8][9] siendo, para algunos autores, la resistencia y el módulo de elasticidad independientes de la longitud y de la sección transversal del ligamento. La cantidad de colágeno por unidad de volumen puede ser una prueba de mayor utilidad pero, sin embargo, hay que tener en cuenta que las propiedades biomecánicas y bioquímicas de los tendones y ligamentos [88][89][251] varían internamente. Esta heterogeneidad indica que la densidad de colágeno debe ser cuantificada en diferentes puntos de esas estructuras, aunque puede explicar la gran variedad de resultados obtenidos en los diferentes ensayos mecánicos realizados sobre ligamentos y tendones.

Nuestros resultados han querido valorar la integración de la plastia con el tiempo y ver si la anchura del túnel tenía algún efecto con su integración. Hemos visto, aunque no se ha podido demostrar estadísticamente, que las plastias en túneles de mayor diámetro presentaban más resistencia y que esta aumentaba con el tiempo. Dejamos las fijaciones tibial y femoral para estudiar la plastia y no la integración en el túnel pues habíamos visto que esta no era completa en las pruebas histológicas y que los resultados no hubieran tenido ningún interés. La plastia no rompió en ningún caso, en la mayoría se iba deshilachando conforme aumentaba la tensión, apreciándose una falta de unión entre los fascículos. La tensión produjo una separación de los fascículos. Con el tiempo la resistencia que ofreció la plastia fue mayor pero, en ningún caso, llegó a los valores que se consideran de normalidad.

Integración del injerto en el túnel óseo

Los tejidos vivos y los órganos son "dinámicos", cambian sus propiedades mecánicas y estructura, en respuesta a las alteraciones de tensión como un fenómeno de su adaptación funcional y buscando una actividad óptima. Este modelo se conoce como 'proceso de remodelación'. Los tendones y ligamentos tienen la capacidad de adaptarse a nuevas condiciones de trabajo en respuesta a los cambios de tensión y movimiento dentro de unas condiciones de trabajo adecuadas [8][9][34][35].

Durante la reparación, en el postoperatorio inmediato el aspecto más importante para mantener la resistencia de la plastia es, sin lugar a dudas, el sistema de fijación [58][246]. Sin embargo, una vez se ha integrado la plastia en los túneles, la resistencia del injerto, por sí mismo, es el que contribuye a la resistencia [99].

Amiel et al [9] denominaron "ligamentación" a la adaptación funcional que tiene lugar en un injerto tendinoso, después de 30 semanas, para convertirse en el ligamento al que sustituye; es decir, el proceso por el cual un tendón se transforma en un ligamento estabilizador con la misma forma que el LCA, siguiendo la conocida "ley de la adaptación funcional" establecida por Roux, a finales del siglo XIX. El trabajo de Amiel [9] demostró la transformación del ligamento rotuliano en una estructura muy similar, en forma y función, a la del LCA. Estableció que dicho proceso seguía diferentes fases, una inicial con necrosis central de la plastia e hipocelularidad sin detectarse revascularización del injerto, seguida por una fase de proliferación, el periodo de mayor actividad remodeladora y revascularización y, por último, la llamada fase de "ligamentización", un proceso de transformación no una regeneración o restauración del LCA original.

En nuestro estudio nunca hemos visto este proceso, siempre, a pesar del tiempo transcurrido, ha permanecido una estructura tendinosa con fibras de colágeno onduladas, grandes, con espacios intersticiales entre ellas con rica vascularización. Es cierto que el aspecto externo es el de un LCA normal, recubierto por sinovial, con un ligamento anterior, en la mayoría de los casos, y con un paquete adiposo de Hoffa totalmente reconstruido.

En el trabajo de Amiel también se reconoce una reparación combinada entre la remodelación intraarticular de la plastia y una reparación intraósea de la incorporación del injerto en los túneles óseos labrados. Este es un aspecto importante no siempre tenido en cuenta. En la integración de un injerto hay que considerar dos zonas bien diferenciadas, el injerto intraarticular, donde se produce la ligamentización, y otra extrarticular que se corresponde con la integración en los túneles y que será diferente en el caso de los injertos HTH y de los isquiotibiales [209].

En nuestro trabajo hemos considerado ambas zonas de manera independiente. De hecho, los túneles los cortamos de forma transversal y la plastia en sentido sagital. Aunque será motivo de otras discusiones debemos afirmar que no

observamos ligamentización y que tampoco vimos integración de la misma con el hueso.

En el aloinjerto de ligamento rotuliano, utilizado para la reconstrucción del ligamento cruzado anterior, los fibroblastos están muertos [5][18][53][51] siendo uno de los factores que contribuyen a la disminución de la resistencia mecánica del injerto.

Distintos autores han demostrado que la resistencia de un injerto rotuliano disminuye de forma rápida después de su fijación para aumentar, poco a poco, con el tiempo [54][185-187], aunque nunca alcanzará su resistencia original [24][34][35][42-44][146]. A partir de las dos semanas del implante la debilidad intrínseca de la plastia disminuye [113][201] y se produce un acortamiento de la misma [42][64], a pesar de la revascularización y reestructuración histológica [34][35][122][123].

Bosch et al [34][35] estudiaron los injertos de ligamento rotuliano con diferentes técnicas, dos años después de su colocación, viendo, después de su implante, una necrosis y degeneración, seguida de un proceso de curación gradual que conlleva la revascularización del injerto, una migración celular y la formación de matriz extracelular. El injerto de ligamento rotuliano no puede reproducir la organización de las fibras de colágeno del ligamento cruzado anterior [34] ni del ligamento cruzado posterior [35]. Las alteraciones degenerativas, con el aumento de colágeno tipo III y la acumulación anormal de glicosaminoglicanos en el autoinjerto coincide con una disminución de las características mecánicas del injerto en comparación con el ligamento control (60% de resistencia y 70% del módulo elástico). Para estos autores no se produce una "ligamentación" sino un proceso con bases muy bien diferenciadas (necrosis, revitalización, formación de colágeno y remodelación) correlacionadas con los cambios en las propiedades mecánicas del injerto.

Como casi todos los tejidos, los ligamentos y tendones responden frente a una lesión con un proceso de inflamación y reparación. La respuesta inflamatoria aguda comprende tres estados: vascular, celular y reparativa, cada uno de los cuales es controlado por complejas interacciones [98].

Se ha dicho que la buena supervivencia de un injerto ligamentoso depende de su revascularización. Johnson et al [126] sospechan que algunos de los trabajos publicados son erróneos pues en la mayoría se ha tomado una biopsia inapropiada al recoger tejido fibroso reorganizado periligamentoso y no del propio injerto [198][260]. Efectuó biopsias del injerto y concluyó que este era un compuesto

hipovascularizado rodeado por un tejido reactivo muy vascularizado. Es cierto que muchos estudios efectuados por artroscopia [140][254][214][216] se fijan en la vascularización de la cara anterior del injerto sin fijarse en el aporte vascular del propio injerto que está recubierto por la sinovial [116].

El espacio tiene una función en el proceso de integración y organización de la interfaz entre el hueso y la plastia. Para mejorar la fijación de la plastia al túnel se ha recomendado que ambos tengan el mismo diámetro [227] aunque, según Yamazaki et al [253] es más importancia la longitud de la plastia que el grosor aunque su estudio tiene poco tiempo de evolución, 6 semanas. Dargel et al [66] concluyeron que se debe hacer un túnel con 1 mm menos de diámetro que la plastia para mejorar la fijación inicial y conseguir un contacto directo a presión.

Por tanto, no es de extrañar que se haya prodigado el uso de factores de crecimiento para acelerar la reparación ligamentosa y tendinosa [245]. Las células encontradas en la reparación del LCA son de origen externo. Junto a la revascularización y repoblación fibroblástica, en la plastia se requiere un tiempo para su remodelación y adquirir características semejantes a las de un LCA. Por ello, existen diferencias evidentes entre la reparación intrínseca de un ligamento lesionado y la remodelación de una plastia. Kuroda et al [140] en un modelo canino, vieron que los factores de crecimiento analizados (bFGF, TGF- β , PDGF-AA y PDGF-BB) mostraban una sobreexpresión a las tres semanas. Por su parte, en lesiones parciales de LCA canino, Kondo et al [138] vieron una mayor resistencia en aquellos que fueron tratados con TGF- β , sin observar mejoría ni en dos grupos controles ni tampoco cuando se aplicaba factor plaquetario (PDGF-BB).

En el caso concreto del aloinjerto, el número de células aumentan progresivamente [18], por una proliferación de las células intrínsecas del injerto o por el crecimiento de las células extrínsecas del huésped. Aunque existe cierta controversia, la mayoría de los trabajos sugieren que las células en este tipo de injertos están muertas [18][244] y son sustituidas completamente por las células de la sinovial del huésped. También es posible que un número limitado de las células congeladas y descongeladas del aloinjerto puedan sobrevivir a este proceso, dependiendo de los criterios que se sigan para examinar dicha supervivencia, como se ha visto en la congelación del cartílago articular [2] y que hay células de los ligamentos congelados que conservan su capacidad de sintetizar colágeno *in vitro* después de una congelación durante 6 semanas a -70° [88].

Como material de sustitución, el ligamento rotuliano ofrece claras ventajas desde el punto de vista mecánico frente a otros tendones, como puede ser el del músculo semitendinoso, pues tiene una resistencia mayor y un mejor anclaje por sus inserciones óseas proximal y distal [184]. Por ello, en el banco de tejidos blandos, el ligamento rotuliano junto con el tendón de Aquiles y la fascia lata [217], son los elementos de mayor utilización.

El injerto libre del tercio central del ligamento rotuliano como sustituto del ligamento cruzado anterior implica la colocación de éste en un medio intrarticular, bajo condiciones de carga poco conocidas durante el tiempo de reparación, penetrando en el ligamento necrótico fibroblastos que provienen de la sinovial [9] siendo imposible que un ligamento rotuliano restaure la estructura específica de un ligamento cruzado anterior [34][35].

Hay publicados diferentes artículos sobre la integración de las plastias para la reparación del LCA, especialmente en modelos experimentales. La reconstrucción del LCA precisa de la reparación de un injerto tendinoso en un túnel creado quirúrgicamente. El anclaje firme del injerto en el propio túnel es fundamental para evitar la debilidad del montaje y permitirá un inicio más temprano de la rehabilitación y la vuelta a la actividad cotidiana. Por eso, Rodeo et al [202] y Martinek et al [165] han defendido el anclaje biológico con BMP2 que mejora la formación de hueso en el túnel. También FGF [136], TGF [222][253], PDGF [69] y EGF (epidermal growth factor) [166] han mostrado la capacidad de mejorar la proliferación y elaboración de la matriz en ligamentos diseñados por la ingeniería tisular. La VEGF promueve la angiogénesis en la reparación ligamentosa [207].

Rodeo et al [202] sostienen que la reparación de la plastia en el túnel se produce por crecimiento óseo en la interfaz fibrovascular entre el tendón y el hueso. En los estudios histológicos se ha visto que las fibras aparecen 4 semanas después de la cirugía. El tejido madura y se organiza y la continuidad entre las fibras de colágeno y el hueso con fibras de Sharpey se vieron a las 12 semanas y se completaba a las 26 semanas. En ninguna de nuestras preparaciones hemos observado unión directa entre la plastia y el hueso. Aunque hay crecimiento trabecular en el túnel, este hueso de nuevo desarrollo está relacionado con la creación de un escudo óseo con hueso trabecular muy denso que defiende las trabéculas óseas de la epífisis de la agresión que supone por una parte la plastia y, por otra, el medio articular. Esta esclerosis puede ser una reacción biológica pero

también tiene un componente mecánico producido por los movimientos de la plastia en el interior del túnel. No se puede olvidar que al poner una fijación en suspensión la plastia se desplaza y deforma durante el movimiento de flexo - extensión impidiendo la integración de la misma en los túneles óseos. Las citadas fibras de Sharpey por numerosos autores han sido en nuestra experiencia difíciles de observar.

Se ha dicho que la resistencia del tendón y el hueso está en relación con la cantidad de hueso hallada [207] pero esto no parece tener ningún sentido al interponerse entre la plastia y el hueso un tejido fibroso peritendinoso, como ocurre con las artroplastias.

¿Existe la “ligamentización”?

Inicialmente se ha descrito [18][9][34][35][135][217] un proceso con aumento de la necrosis, especialmente, en el centro del injerto e hipocelularidad sin observar una revascularización de la plastia [18][135][216][255]. La prueba más clara es la pérdida de conexión entre las fibras, dejando un espacio amplio entre ellas, que puede ser de utilidad para facilitar la penetración de vasos y nervios en su interior. Este proceso inicial de necrosis es, desde nuestro punto de vista, una muerte del injerto para facilitar la invasión de vasos y células desde el exterior para regenerar el ligamento.

Al mismo tiempo que aumenta la proliferación celular comienza una intensa revascularización de la plastia, concretamente a partir de la 4ª semana [18][54][209][232][245]. Yoshikawa et al [255] vieron una sobreexpresión de VEGF alrededor de las 2 a 3 semanas después de la reconstrucción que produce la propia necrosis que conlleva una hipoxia por falta de vasos en la plastia al inicio de la fase de reparación. Sin embargo, no encuentran una hipervascularización antes de las 4 - 8 semanas. Por su parte, Petersen et al [194] y Unterhauser et al [232] observaron que el proceso de revascularización progresa desde la periferia de la plastia hacia el interior al final de la fase de proliferación alrededor de la semana 12. La densidad vascular vuelve a la normalidad, más tarde, en la fase de “ligamentización”, aproximadamente hacia los 6 meses [194][232]. Sin embargo, no esta clara la relación de vascularización y reparación del ligamento. La desintegración de las fibras de colágeno y su orientación se observa, lo más pronto, tres semanas después de operación [34][99]. Bosch et al [34] encontraron un aumento de la

expresión de colágeno tipo III en la reparación de la plastia y no se ha señalado en ningún trabajo, una reparación completa y un comportamiento mecánico similar al de los LCA intactos, en modelos animales, dos años después de la operación.

La vascularización, a través de la plastia, disminuye y vuelve a los valores del LCA normal y los vasos se distribuyen por todo el LCA, entre las 6 y los 12 meses [18][55][232][245][255], como también se ha visto en modelos con conejo, perro y oveja [9][139][180][245] con ciertas proteínas extracelulares.

Los vasos y las células, según nuestras observaciones, parecen llegar en mayor cantidad en la zona intraarticular de la plastia recubriendo el tendón con una membrana de tejido sinovial. El tejido peritendinoso de los túneles no tienen vasos y, además, los pequeños movimientos y deformaciones impiden su revascularización en dicha zona.

La sobreexpresión de la revascularización conlleva una infiltración celular y expresión de fibroblastos durante la fase de proliferación pero esto también induce un deterioro de las propiedades mecánicas de la plastia [255] que se demuestra por el comportamiento biomecánico de las plastias analizadas al ver que el comportamiento biomecánico aumenta con el tiempo de evolución y que no guarda relación con el tamaño del túnel, o mejor dicho, que las plastias insertadas en los túneles a presión no tienen mejor comportamiento que las plastias holgadas en túneles más amplios. Quisiéramos insistir en que la plastia se reconstruye en su porción articular y no en las zonas tunelizadas y, por tanto, el grosor del túnel no afecta en la integración biológica ni en el comportamiento biomecánico de ambas y la pérdida de la orientación y ondulación de las fibras de colágeno que reducen las propiedades mecánicas de la plastia se producen por igual en ambos tipos de injertos.

El objetivo de la cirugía de la rotura del LCA es que la mecánica articular de la rodilla se restaure y que se reproduzcan las condiciones mecánicas del LCA intacto. Solo, cuando la reconstrucción puede restaurar la anatomía del LCA intacto, la cinemática articular no presentará diferencias estabilizada por un LCA o por una plastia.

El injerto presenta una pérdida lenta de sus propiedades mecánicas en la fase inicial que dura hasta la 6ª semana [35][192][216] pero nunca llegan a alcanzar valores de normalidad. Esto nos plantea una duda sobre la eficacia mecánica de las cirugías de reconstrucción del LCA. La estabilidad articular procede no solo de la

plastia si no también de las estructuras adyacentes, reconstrucción del ambiente sinovial y, sobre todo, de una buena musculatura que se adapta a las necesidades de las actividades diarias de cada paciente.

En la integración de un injerto, sea del tipo que sea, el colágeno es sustituido de forma continua [209] y el nuevo colágeno lo producen los fibroblastos mientras que la reabsorción de las fibras originales se realiza por las colagenasas y catepsinas, las cuales se originan de fibroblastos, macrófagos o leucocitos polimórficos.

La celularidad vuelve lentamente a los valores normales entre los 3 y los 6 meses después de la intervención [53][232][246] pero la estructura de colágeno está lejana de la normalidad y en nuestro caso seguimos viendo una estructura tendinosa un año después de la cirugía. Si consideramos que la oveja tiene un mayor índice de integración que en el hombre adulto podremos concluir que la integración de una plastia tendinosa en el hombre no se producirá hasta pasados unos tres años de la cirugía.

También se ha descrito que las fibras de colágeno empiezan a semejar un LCA entre los 6 y los 12 meses después de la reconstrucción [245] pero la composición heterogénea de las fibras de colágeno de diferentes diámetros del LCA nunca se consigue [1]. De hecho, Ng et al [179][180] vieron en un modelo caprino, que el colágeno tipo III permanece aumentado, en la plastia remodelada, durante más de un año y vuelve a valores normales hacia los tres años, sugiriendo que el proceso de ligamentización puede continuar durante mucho más tiempo del esperado. Diferentes autores [1][52][232][256] señalan que tanto las plastias de ligamento rotuliano como de la pata de ganso presentan un recambio de fibrillas de colágeno de gran diámetro por otras de diámetro menor durante dos años. Esto coincide con las conclusiones de Bosch et al [34] de que la plastia sigue un proceso de adaptación más que una reparación.

Desde nuestro punto de vista, aunque el término de ligamentización se ha aceptado no hay que entenderlo como una transformación de un injerto tendinoso en un ligamento. En primer lugar por qué no están claras las diferencias entre tendones y ligamentos. Para nosotros es más una diferencia anatómica que molecular o biomecánica. Los ligamentos unen dos porciones óseas para estabilizar una articulación mientras que los tendones son la porción de inserción de un músculo. Esto de por sí representa una diferencia que conlleva cambios

estructurales y que hará que unos y otros sean diferentes en su comportamiento mecánico. Además, hay muchas diferencias entre los ligamentos y, también, entre los tendones. Incluso, en un mismo ligamento cada porción tiene una estructura diferente.

Por eso la conocida como “ligamentización” es la transformación de un tendón extraarticular, alejado del ambiente sinovial y sometido a deformación continua por la contracción muscular, innervado y vascularizado por el propio músculo, a una estructura intraarticular, rodeada de un ambiente sinovial, separado de cualquier músculo y unida a dos porciones óseas. Además, la dirección de sus fibras no están orientadas para prevenir movimientos de traslación ni tampoco de rotación. La plastia sufre cambios para intentar adaptarse a su nueva ubicación sin conseguirlo completamente después de mucho tiempo.

Limitaciones del estudio

Este estudio ha tenido limitaciones inherentes al propio estudio y otras totalmente ajenas al mismo. El trabajo que se ha presentado es parte de un proyecto FIS que fue concedido al director de esta tesis como IP. Motivaciones de tipo político han creado problemas para la continuidad del mismo por lo que se ha visto interrumpido de forma abrupta y agresiva impidiendo que se hayan ofrecido otros muchos datos que hubieran sido de nuestro interés.

Además, del número de animales, el trabajo está limitado por el tipo de estudio, ya que hacer un estudio de la reconstrucción de una plastia de LCA en animales cuadrúpedos es una limitación importante. Esto puede explicar que hayan tan pocos trabajos experimentales con estas técnicas.

Las muestras intervenidas y la falta de mediciones ha impedido que se pueda hacer un estudio estadístico.

CONCLUSIONES

1. No hemos visto diferencias histológicas en la integración en los túneles óseos, tibial o femoral, de una plastia a presión u holgada en la reconstrucción de una rotura del ligamento cruzado anterior, en la oveja.

2. Tanto en el túnel tibial como en el túnel femoral se forma una esclerosis ósea que separa el hueso trabecular epifisario de la plastia, dejando un espacio entre ambos constituido por un tejido fibroso peritendinoso. No son frecuentes las fibras de Sharpey uniendo ambas estructuras.

3. Biomecánicamente hemos hallado una tendencia al aumento de la resistencia de la plastia con el tiempo y con el grosor del túnel efectuado. Las plastias colocadas en túneles holgados mostraron valores de rotura más altos que aquellas que fueron insertadas a presión en túneles de menor diámetro.

4. La porción intraarticular de la plastia sufre una transformación con el tiempo que lleva a una separación de las fibras de colágeno, penetración de vasos desarrollando una estructura que en ningún momento recuerda histológicamente a la del ligamento cruzado anterior. Desechamos el término de “ligamentización”

BIBLIOGRAFÍA

1. Abe S, Kurosaka M, Iguchi T, Yoshiya S, Hirohata K. Light and electron microscopic study of remodeling and maturation process in autogenous graft for anterior cruciate ligament reconstruction. *Arthroscopy*. 1993; 9:394-405.
2. Acosta C, Izal I, Ripalda P, Forriol F. Cell viability and protein composition in cryopreserved cartilage. *Clin Orthop Rel Res* 2007; 460:234-9.
3. Adachi N, Ochi M, Uchio Y, Sakai Y, Kuriwaka M, Fujihara A. Harvesting tendons for ACL reconstruction influences postoperative hamstring muscle performance. *Arch Orthop Traum Surg* 2003; 123:460-5.
4. Aglietti P, Giron F, Buzzi R, Biddau F, Sasso F. Anterior cruciate ligament reconstruction: bone-patellar tendon - bone compared with double semitendinous and gracilis tendon grafts. *J Bone Joint Surg (Am)* 2004; 86-A:2143-55.
5. Alm A, Ekstrom H, Gillquist J. The anterior cruciate ligament. *Acta orthop scand (suppl)* 1974; 445:3-49.
6. Alm A, Gillquist J. Reconstruction of the anterior cruciate ligament by using the medial third of the patellar ligament: treatment and results. *Acta Chir Scand*. 1974;140:289-296.
7. Alm A, Stomberg B. Vascular anatomy of the patellar and cruciate ligaments. *Acta Chir Scand (suppl)* 1974; 445:3-49.
8. Amiel D, Frank C, Harwood F, Fronck J, Akeson W. Tendons and ligaments: a morphological and biochemical comparison. *J Orthop Res* 1984; 1:257-65.
9. Amiel D, Kleiner JB, Akeson WH. The natural history of the anterior cruciate ligament autograft of patellar tendon origin. *Am J Sports Med* 1986; 14:449-62.
10. Amir G, Lowe J, Finsterbush A. Histomorphometric analysis of innervation of the anterior cruciate ligament in osteoarthritis. *J Orthop Res* 1995; 13:78-82.
11. Amis AA, Dawkins GP. Functional anatomy of the anterior cruciate ligament: fibre bundle actions related to ligament replacements and injuries. *J Bone Joint Surg (Br)* 1991;73-B:260-7.
12. Amis AA, Jakob RP. Anterior cruciate ligament graft positioning, tensioning and twisting. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 1998; 6(suppl 1):S2-S12.

13. Amis AA, Scammell BE. Biomechanics of intra-articular and extra-articular reconstruction of the anterior cruciate ligament. *J Bone Joint Surg (Br)* 1993; 75-B:812-7.
14. Amis AA, Zavras TD. Isometricity and graft placement during anterior cruciate ligament reconstruction. *Knee* 1995; 2:5-17.
15. Amis AA. Anterior cruciate ligament replacement. *J Bone Joint Surg (Br)* 1989; 71-B:819-24.
16. Anderson AF, Snyder RB, Lipscomb AB Jr. Anterior cruciate ligament reconstruction. A prospective randomized study of three surgical methods. *Am J Sports Med* 2001; 29:272 -9.
17. Anetzberger H, Muller-Gerbl M, Scherer MA, Metak G, Blümel G, Putz R. Veränderung der subchondralen Mineralisierung nach Rekonstruktion des vorderen Kreuzbands beim Schaf. *Unfallchirurg* 1994; 97:655-60.
18. Arnoczky SP, Tarvin GB, Marshall JL. ACL replacement using patellar tendons. *J Bone Joint Surg (Am)* 1982; 64A:217-24.
19. Arnold MP, Kooloos J, van Kampen A. Single-incision technique misses the anatomical femoral anterior cruciate ligament insertion: a cadaver study. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2001; 9:194-9.
20. Asociación Española de Artroscopia (AEA). Informe sobre el perfil de la cirugía artroscópica en España. *Cuadernos de Artroscopia* 2001; 8:10-21.
21. Attia E, Brown H, Henshaw R, George S, Hannafin JA. Patterns of gene expression in a rabbit partial anterior cruciate ligament transection model: the potential role of mechanical forces. *Am J Sports Med* 2010; 38:348-56.
22. Augustine RW. The unstable knee. *Am J Surg* 1956; 92:380.
23. Bach BR. ACL reconstruction: revisited, revised, reviewed. *J Knee Surg* 2004; 17:125 - 6.
24. Ballock RT, Woo SL-Y, Lyon RM, Hollis JM, Akeson WH. Use of patellar tendon autograft for anterior cruciate ligament reconstruction in the rabbit: a long term histological and biomechanical study. *J Orthop Res* 1989; 7:474-85.
25. Beauchamp P, Laurin CA, Bailon JP. Etude des propriétés mécaniques des ligaments croisés en vue de leur remplacement prothétique. *Rev Chir Orthop* 1979; 65:38-45
26. Beynon B, Howe J, Pope M, Johnson R, Fleming B. The measurement of anterior cruciate ligament strain in vivo. *Int Orthop.* 1992; 16:1-12.

27. Beynnon BD, Fleming BC. Anterior cruciate ligament strain in-vivo: a review of previous work. *J Biomech* 1998; 31:519-25.
28. Beynnon BD, Johnson RJ, Abate JA, Fleming BC, Nichols CE. Treatment of anterior cruciate ligament injuries (part I). *Am J Sports Med* 2005; 33:1579-602.
29. Blazina ME. Ligament replacements. Clinical evaluation. *Clin Orthop Relat Res* 1985; 196:7-8.
30. Blickenstaff K, Grana W, Egle D. Analysis of a semitendinosus autograft in a rabbit model. *Am J Sports Med*. 1997; 25:554-9.
31. Bolton CW, Bruchman WC. The Gore-Tex expanded poly-tetra-fluoro-ethylene prosthetic ligament: an in vitro and in vivo evaluation. *Clin Orthop Rel Res* 1985; 196:202-13.
32. Bonfills N, Gómez-Barrena E, Raygoza JJ, Nuñez A. Loss of neuromuscular control related to motion in the acutely ACL-injured knee: an experimental study. *Eur J Appl Physiol* 2008; 104:567-77.
33. Bonfim TR, Grossi DB, Paccola CA, Barela JA. Additional sensory information reduces body sway of individuals with anterior cruciate ligament injury. *Neurosci Lett* 2008; 441:257-60.
34. Bosch U, Decker B, Moller HD, Kasperczyk WJ, Oestern HJ. Collagen fibril organization in the patellar tendon autograft after posterior cruciate ligament reconstruction. *Am J Sports Med* 1995; 23: 196-202.
35. Bosch U, Kasperczyk J. Healing of the patellar tendon autograft after posterior cruciate ligament reconstruction-a process of ligamentization. *Am J Sports Med* 1992; 20:558-66.
36. Bousquet G. Anatomie et physiologie chirurgicale du genou. En: *Cahiers d'enseignement de la SOFCOT 1: les fractures du genou*. Expansion Scientifique Française, Paris, 1975, 9-23.
37. Bray DF, Bray RC, Frank CB. Ultrastructural immunolocalization of type VI collagen and chondroitin sulphate in ligament. *J Orthop Res* 1993; 11:677-85
38. Bray RC. Blood supply of ligaments: a brief overview. *Orthopaedics (Int Ed)* 1995; 3:39-48
39. Brophy RH, Voos JE, Shannon FJ, Granchi CC, Wickiewicz TL, Warren RF, Pearle AD. Changes in the length of virtual anterior cruciate ligament fibers during stability testing. A comparison of conventional single-bundle

- reconstruction and native anterior cruciate ligament. *Am J Sports Med* 2008; 36:2196-203.
40. Brucker PU, Zelle BA, Fu FH. Revision after anterior cruciate ligament reconstruction by restoration of the posterolateral bundle. *Operative Techniques in Orthopaedics* 2005; 15:146-50.
 41. Burks RT, Crim J, Fink BP, Boylan DN, Greis PE. The effects of semitendinosus and gracilis harvest in anterior cruciate ligament reconstruction. *Arthroscopy* 2005; 21:1177-85.
 42. Butler DL, Guan Y, Kay MD, Cummings JF, Feder SM, Levy MS. Location-dependent variations in the material properties of the anterior cruciate ligament. *J Biomechanics* 1992; 25:511-8.
 43. Butler DL, Hulse DA, Kay MD, Cummings JF, Feder SM, Levy MS. Biomechanics of cranial cruciate ligament reconstruction in the dog. II. Mechanical properties. *Vet Surg* 1983; 12:113-8.
 44. Butler DL, Noyes FR, Walz KA, Gibbons MJ. Biomechanics of human knee ligament allograft treatment. *Trans Orthop Res Soc* 1987, 12:128
 45. Cabaud HE, Feagin JA, Rodkey WG. Acute anterior cruciate ligament injury and repair reinforced with biodegradable intraarticular ligament. *Experimental studies. Am J Sports Med.* 1982; 10:259-65.
 46. Cabaud HE. Biomechanics of the anterior cruciate ligament. *Clin Orthop Rel Res* 1983; 172:26-31.
 47. Cabot JR. Traitement chirurgical des lesions recentes de l'appareil capsuloligamentaire du genou dans le sport. *Medicina Sportiva* 1957; 12:620-36.
 48. Calvisi V LS, Rinonapoli G, Padua R. Single-bundle versus double-bundle arthroscopic reconstruction of the anterior cruciate ligament: what does the available evidence suggest? *J Orthopaed Traumatol* 2007; 8:95-100.
 49. Campbell WC. Reconstruction of the ligaments of the knee. *Am J Surg.* 1939; 43:473-80.
 50. Chandrasekhar S, Harvey A, Hrubey P. Intra-articular administration of interleukin-1 causes prolonged suppression of cartilage proteoglycan synthesis in rats. *Matrix.* 1992; 12:1-10.

51. Chiroff RT. Experimental replacement of the anterior cruciate ligament: a histological and microradiographic study. *J Bone Joint Surg (Am)* 1975; 57A: 1124-7.
52. Cho KO. Reconstruction of the anterior cruciate ligament by semitendinosus tenodesis. *J Bone Joint Surg (Am)* 1975; 57-A:608-12.
53. Clancy W. Anterior cruciate ligament functional instability. *Clin Orthop Rel Res* 1963; 172:102-6.
54. Clancy WG, Narechania RG, Rosenberg TD, Gmeiner JG, Wisnefske DD, Lange TA. Anterior and posterior cruciate ligament reconstruction in rhesus monkeys-a histological, microangiographic, and biomechanical analysis. *J Bone Joint Surg* 1981; 63A: 1270-84.
55. Clancy WG, Nelson DA, Reider B, Narechania RG. Anterior cruciate ligament reconstruction using one-third of the patellar ligament, augmented by extra-articular tendon transfers. *J Bone Joint Surg* 1982; 64 A:352-9.
56. Clatworthy M, Annear P, Bulow J, Bartlett R. Tunnel widening in anterior cruciate ligament reconstruction: a prospective evaluation of hamstring and patella tendon grafts. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 1999; 7:138-45.
57. Colombet P, Robinson J, Christel P, Franceschi JP, Dijan P, Bellier G et al. Morphology of anterior cruciate ligament attachment for anatomic reconstruction: a cadaveric dissection and radiographic study. *Arthroscopy* 2006; 22:984-92.
58. Conner CS, Perez BA, Morris RP, Buckner JW, Budford WL, Irvey FM. Three femoral fixation devices for anterior cruciate ligament reconstruction: comparison of fixation on the lateral cortex versus the anterior cortex. *Arthroscopy* 2010; 26:796-807.
59. Coombes RRH, Klenerman L, Narcisi P, Nichols A, Pope FM. Collagen typing in Achilles tendon rupture. *J Bone Joint Surg (Br)* 1980; 62-B:258-61.
60. Cooper DE, Small J, Urrea L. Factors affecting graft excursion patterns in endoscopic anterior cruciate ligament reconstruction. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 1998; 6(suppl 1):S20-S24.
61. Cummings JF, Grood ES, Butler DL, Levy MS. Subject variation in caprine anterior cruciate ligament reconstruction. *J Orthop Res* 2002; 20:1009-15.
62. Cummings JF, Grood ES, Levy MS, Korvick DL, Wyatt R, Noyes FR. The effects

- of graft width and graft laxity on the outcome of caprine anterior cruciate ligament reconstruction. *J Orthop Res* 2002; 20:338-45.
63. Cummings JF, Grood ES. The progression of anterior translation after anterior cruciate ligament reconstruction in a caprine model. *J Orthop Res* 2002; 20:1003-8.
 64. Dandy DJ, Desai S. Patellar tendon length after ACL reconstruction. *J Bone Joint Surg (Br)* 1993; 76-B:198-9.
 65. Danto MI, Woo SL. The mechanical properties of skeletally mature rabbit anterior cruciate ligament and patellar tendon over a range of strain rates. *J Orthop Res* 1993; 11:58-67.
 66. Dargel J, Schmidt-Wiethoff R, Brüggemann GP, Koebke J. The effect of bone tunnel dilation versus extraction drilling on the initial fixation strength of press-fit anterior cruciate ligament reconstruction. *Arch Orthop Trauma Surg* 2007; 127:801-7.
 67. Dejour H, Bousquet G. Ruptures ligamentaires du genou. *Encycl Med Chir* 1975; 14092:1-12.
 68. Del Corral A, Forriol F, Cañadell J. Efectos de la crioconservación sobre el comportamiento mecánico del ligamento rotuliano. Estudio experimental en corderos. *Rev Ortop Traumatol* 1998; 42:225-30
 69. DesRosiers E, Yahia L, Rivard C. Proliferative and matrix synthesis response of canine anterior cruciate ligament fibroblasts submitted to combined growth factors. *J Orthop Res*. 1996; 14:200-8.
 70. Doi M, Takahashi M, Abe M, Suzuki D, Nagano A. Lateral radiographic study of the tibial sagittal insertions of the anteromedial and posterolateral bundles of human anterior cruciate ligament. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2009; 17:347-51.
 71. Dustmann M, Schmidt T, Gangney I, Unterhauser FN, Weiler A, Scheffler SU. The extracellular remodeling of free-soft-tissue autografts and allografts for reconstruction of the anterior cruciate ligament: a comparison study in a sheep model. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2008; 16:360-9.
 72. Dutoit GT. Knee joint cruciate ligament substitution. The Lindemann (Heidelberg) operation. *S Afr J Surg* 1967; 5:25-30.
 73. Eagar P, Hull ML, Howell SM. How the fixation method stiffness and initial tension affect anterior load-displacement of the knee and tension in anterior

- cruciate ligament grafts: a study in cadaveric knees using a double-loop hamstrings graft. *J Orthop Res* 2004; 22:613-24.
74. Ekdahl M, Nozaki M, Ferretti M, Tsai A, Smolinski P, Fu FH. The effect of tunnel placement on bone-tendon healing in anterior cruciate ligament reconstruction in a goat model. *Am J Sports Med* 2009; 37:1522-30.
 75. Elliott MJ, Kurtz CA. Peripheral versus aperture fixation for anterior cruciate ligament reconstruction. *Clin Sports Med* 2007; 26:683-93.
 76. Ellison AE. Distal iliotibial band transfer for anterolateral rotatory instability of the knee. *J Bone Joint Surg (Am)* 1979; 61-A:330-7.
 77. Eriksson E. Can an ACL reconstruction replicate the normal ACL? *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2005; 13:613.
 78. Eriksson E. Partial ACL injuries. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2007; 15:1065.
 79. Eriksson E. Reconstruction of the anterior cruciate ligament. *Orthop Clin North Am* 1976; 7:167-79.
 80. Eriksson E. Single-bundle, double-bundle or triple bundle? *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2006; 13:503-4.
 81. Eriksson K, Anderberg P, Hamberg P, Olerud P, Wredmark T. There are differences in early morbidity after ACL reconstruction when comparing patellar tendon and semitendinous tendon graft. *Scand J Med Sci Sports* 2001; 11:170-7.
 82. Fauno P, Kaalund S. Tunnel widening after hamstring anterior cruciate ligament reconstruction is influenced by the type of graft fixation used: a prospective randomized study. *Arthroscopy*. 2005; 21:1337-41.
 83. Ferretti M, Ekdahl M, Shen W, Fu FH. Osseous landmarks of the femoral attachment of the anterior cruciate ligament: an anatomic study. *Arthroscopy* 2007; 23:1218-25.
 84. Ferretti M, Levicoff EA, Macpherson TA, Moreland MS, Cohen M, Fu FH. The fetal anterior cruciate ligamento: an anatomic and histologic study. *Arthroscopy* 2007; 23:278-83.
 85. Fleming BC, Beynon BD, Nichols CE, Johnson RJ, Pope MH. An in vivo comparison of anterior tibial translation and strain in the anteromedial band of the anterior cruciate ligament. *J Biomech* 1993; 26:51-8.

86. Fleming BC, Spindler KP, Palmer P, Margarian EM, Murray MM. Collagen - Platelet composites improve the biomechanical properties of healing anterior cruciate ligament grafts in a porcine model. *Am J Sports Med* 2009; 37:1554-63.
87. Forriol F, Maestro A, Vaquero J. El ligamento cruzado anterior: morfología y función. *Trauma Fundación MAPFRE* 2008; 19(supl 1): 7-18
88. Frank C, Amiel D, Woo SLY, Akeson W. Normal ligament properties and ligament healing. *Clin Orthop Rel Res* 1985; 196:15-25
89. Frank C, McDonald D, Lieber R, Sabiston P. Biochemical heterogeneity within the maturing rabbit medial collateral ligament. *Clin Orthop* 1988; 236:279-85.
90. Fujikawa K, Iseki F, Seddhom BB. Arthroscopy after anterior cruciate ligament reconstruction with Leeds-Keio ligament. *J Bone Joint Surg (Br)* 1989; 71-B: 566-70.
91. Fujikawa K, Kobayashi T, Sasazaki Y, Matsumoto H, Seddhom BB. Anterior cruciate reconstruction with the Leeds-Keio artificial ligament. *J Long Term Eff Med Implants* 2000; 10:225-38.
92. Fuss F. The restraining function of the cruciate ligaments on hyperextension and hyperflexion in the human knee joint. *Anat Rec* 1991; 230:283-9.
93. Fuss FK. Optimal replacement of the cruciate ligaments from the functional anatomical point of view. *Acta Anat* 1991; 140:260-8.
94. George MS, Dunn WR, Spindler KP. Current concepts review: revision anterior cruciate ligament reconstruction. *Am J Sports Med* 2006; 34:2026-37.
95. Gillquist J. Repair and reconstruction of the ACL. Is it good enough? *Arthroscopy* 1993; 9:68-71.
96. Golblatt JP, Fitzsimmons SE, Balk E, Richmond JC. Reconstruction of the anterior cruciate ligament: Meta-Analysis of patellar tendon versus hamstring tendon autograft. *Arthroscopy* 2005; 21:791-803.
97. Goldstein J, Bosco JA. The ACL-deficient knee. Natural History and treatment options. *Bull Hosp Jt Dis* 2001-2002; 60:173-8.
98. Goodship AE, Cooke P. Biocompatibility of tendon and ligament prostheses. *CRC Critical Reviews in Biocompatibility* 1988; 2:303-34.
99. Goradia V, Rochat M, Grana W, Rohrer M, Prasad H. Tendon-to-bone healing of a semitendinosus tendon autograft used for ACL reconstruction in a

- sheep model. *Am J Knee Surg.* 2000;13(3):143-51.
100. Graf BK, Lange RH, Fujisaki K, Landry GL, Saluja RK. Anterior cruciate ligament tears in skeletally immature patients: meniscal pathology at presentation and after attempted conservative treatment. *Arthroscopy* 1992; 8:229-33.
 101. Granan L-P, Bahr R, Lie SA, Engebretsen L. Timing of anterior cruciate ligament reconstructive surgery and risk of cartilage lesions and meniscal tears. A cohort of study based on the Norwegian National Knee Ligament Registry. *Am J Sports Med* 2009; 37:955-61.
 102. Grood ES, Noyes FR. Cruciate ligament prosthesis: strength, creep, and fatigue properties. *J Bone Joint Surg (Am)* 1976; 58-A:1083-8.
 103. Grover D, Thompson D, Hull ML, Howell SM. Empirical relationship between lengthening an anterior cruciate ligament graft and increases in knee anterior laxity: a human cadaveric study. *J Biomech Eng* 2006; 128:969-72.
 104. Hadjicostas PT, Soucacos PN, Koleganova N, Krohmer G, Berger I. Comparative and morphological analysis of commonly used autografts for anterior cruciate ligament reconstruction with the native ACL: an electron, microscopic and morphologic study. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2008; 16:1099-107.
 105. Halata Z, Rettig T, Schulze W. The ultrastructure of sensory nerve endings in the human knee joint capsule. *Anat Embryol* 1985; 172:265-71.
 106. Hame SL, Markolf KL, Hunter DM, Oakes DA, Zoric B. Effects of notchplasty and femoral tunnel position on excursion patterns of an anterior cruciate ligament graft. *Arthroscopy* 2003; 19:340-5.
 107. Harner C, Phoeling G. Double bundle or double trouble? *Arthroscopy* 2004; 20:1013-4.
 108. Hashemi J, Chandrashekar N, Mansouri H, Slaughterbeck JR, Hardy DM. The human anterior cruciate ligament: differences in ultrastructure and correlation with biomechanical properties. *J Orthop Res* 2008; 26:945-50.
 109. Haut RC, Powlison AC. The effects of test environment and cyclic stretching on the failure properties of human patellar tendons. *J Orthop Res* 1990; 8:532-40.
 110. Hey Groves EW. Operation for the repair of the crucial ligaments. *Lancet.* 1917;2:674-675.
 111. Hogervorst T, Howard RA, Thornton GM, Paulson K, Shrive NG, Ronsky JL, et

- al. A potential animal model for creating a controlled and reversible anterior cruciate ligament insufficiency. *Knee* 2002; 9:209-14.
112. Hoher J, Livesay GA, Ma CB, Withrow JD, Fu FH, Woo SL. Hamstring graft motion in the femoral bone tunnel when using titanium button/polyester tape fixation. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 1999; 7:215-9.
113. Holden JP, Grood ES, Butler DL, Noyes FR, Mendenhall HV, van Kampen CL, et al. Biomechanics of fascia lata ligament replacements: early postoperative changes in the goat. *J Orthop Res* 1988; 6:639-47.
114. Holzmüller W, Rehm KE, Perren SM. Mechanische Eigenschaften PDS-augmentierter Patellarsehnentransplantate zur Rekonstruktion des vorderen Kreuzbandes. *Unfallchirurg* 1992; 95:306-10.
115. Howell SM, Clark JA, Farley TE. A rationale for predicting anterior cruciate graft impingement by the intercondylar roof. A MRI study. *Am J Sports Med* 1991; 19:276-82.
116. Howell SM, Knoke KE, Farley TE, Taylor MA. Revascularization of a human anterior cruciate ligament graft during the first two years of implantation. *Am J Sports Med* 1995; 23:42-9.
117. Hunt P, Scheffler S, Unterhauser F, Weiler A. A model of soft-tissue graft anterior cruciate ligament reconstruction in sheep. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2005; 125:238-48.
118. Inoue M, McGurk E, Hollis JM, Woo SLY. Treatment of the medial collateral ligament injury. *Am J Sports Med* 1987; 15:15-21.
119. Insall J, Joseph D, Aglietti P, Campbell R. Bone-block iliotibial-band transfer for anterior cruciate insufficiency. *J Bone Joint Surg Am.* 1981; 63-A:560-9.
120. Iriuchishima T, Tajima G, Ingham SJ, Shen W, Horaguchi T, Saito A, et al. Intercondylar roof impingement pressure after anterior cruciate ligament reconstruction in a porcine model. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2009; 17:590-4.
121. Jackson D, Whelan J, Simon T. Cell survival after transplantation of fresh meniscal allografts. DNA probe analysis in a goat model. *Am J Sports Med* 1993; 21:540-50.
122. Jackson DW, Grood ES, Arnoczky SP, Butler DL, Simon TM. Cruciate reconstruction using freeze dried anterior cruciate ligament allograft and a

- ligament augmentation device (LAD): an experimental study in a goat model. *Am J Sports Med* 1987, 15:528-38.
123. Jackson DW, Windler GE, Simon TM. Intraarticular reaction associated with the use of freeze-dried, ethylene oxide-sterilized bone-patella tendon-bone allografts in the reconstruction of the anterior cruciate ligament. *Am J Sports Med* 1990; 18:1-11
 124. Jansson K, Linko E, Sandelin J, Hairlainen A. A prospective randomized study of patellar versus hamstring tendon autografts for anterior cruciate ligament reconstruction. *Am J Sports Med* 2003; 31:12-8.
 125. Jenkins DHR. The repair of cruciate ligaments with flexible carbon fibre. A longer term study of the induction of new ligaments and of the fate of the implanted carbon. *J Bone Joint Surg (Br)* 1978; 60-B:520-2.
 126. Johnson DH, Maffulli N, King JB, Shelbourne KD. Anterior cruciate ligament reconstruction: A cynical view from the British Isles on the indications for surgery. *Arthroscopy* 2003; 19:203-9.
 127. Johnson GA, Tramaglini DM, Levine RE et al. Tensile and viscoelastic properties of human patellar tendon. *J Orthop Res* 1994; 12:796-803.
 128. Jones KG. Reconstruction of the anterior cruciate ligament using the central one-third of the patellar ligament. *J Bone Joint Surg Am.* 1970; 52-A:838-9.
 129. Kasperczyk WJ, Bosch U, Oestern HJ, Tscherner H. Staging of patellar tendon autograft healing after posterior cruciate ligament reconstruction: a biomechanical and histological study in a sheep model. *Clin Orthop Rel Res* 1993; 286:271-82.
 130. Kato Y, Ingham SJM, Kramer S, Smolinski P, Saito A, Fu FH. Effect of tunnel position for anatomic single – bundle ACL reconstruction on knee biomechanics in a porcine model. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2010; 18:2-10.
 131. Kawamura S, Ying L, Kim H, Dynybil C, Rodeo S. Macrophages accumulate in the early phase of tendon-bone healing. *J Orthop Res.* 2005; 23:1425-32.
 132. Kennedy J. Application of prosthetics to anterior cruciate ligament reconstruction and repair. *Clin Orthop Rel Res* 1983; 172:125-8.
 133. Kennedy JC, Weinberg HW, Wilson AS. The anatomy and function of the anterior cruciate ligament: as determined by clinical and morphological studies. *J Bone Joint Surg (Am)* 1974; 56-A:223-5.

134. Klein J, Lintner D, Downs D, Vavrenka K. The incidence and significance of femoral tunnel widening after quadrupled hamstring anterior cruciate ligament reconstruction using femoral cross pin fixation. *Arthroscopy* 19:470-6.
135. Kleiner JB, Amiel D, Harwood FL et al. Early histologic, metabolic and vascular assessment of anterior cruciate ligament autografts. *J Orthop Res* 1989; 7:235-42.
136. Kobayashi S, Baba H, Uchida K, Negoro K, Sato M, Miyazaki T, et al. Microvascular system of anterior cruciate ligament in dogs. *J Orthop Res* 2006; 24:1509-20.
137. Kocher MS, Tucker R, Briggs KK. Relationship between subjective and objective assessment of outcomes after anterior cruciate ligament reconstruction. *J Knee Surg* 2005; 18:73-81.
138. Kondo E, Yasuda K, Yamanaka M, Minami A, Tohyama H. Effects of administration of exogenous growth factors on biomechanical properties of the elongation-type anterior cruciate ligament injury with partial laceration. *Am J Sports Med* 2005; 33:188-96.
139. Korvick DL, Pijanowski GJ, Schaeffer DJ. Three-dimensional kinematics of the intact and cranial cruciate ligament-deficient stifle of dogs. *J Biomechanics*. 1994; 27:77-87
140. Kuroda R, Kurosaka M, Yoshiya S, Mizuno K. Localization of growth factors in the reconstructed anterior cruciate ligament: immunohistological study in dogs. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2000; 8:120-6.
141. Kurosawa H, Yamakoshi K, Yasuda K, Sasaki T. Simultaneous measurement of changes in length of the cruciate ligaments during knee motion. *Clin Orthop Relat Res* 1991; 265:233-40.
142. Kwan MK, Lin THC, Woo SLY. On the viscoelastic properties of the anteromedial bundle of the anterior cruciate ligament. *J Biomech* 1993; 26:447-52.
143. L'Insalata J, Klatt B, Fu F, Harner C. Tunnel expansion following anterior cruciate ligament reconstruction: a comparison of hamstring and patellar tendon autografts. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 1997; 5:234-8.

144. Lam SJS. Reconstruction of the anterior cruciate ligament using the Jones procedure and its Guy's Hospital modification. *J Bone Joint Surg (Am)* 1968; 50-A:1213-24.
145. Levy AS, Meier SW. Approach to cartilage injury in the anterior cruciate ligament-deficient knee. *Orthop Clin North Am* 2003; 34:149-67.
146. Lewis J, Lew WD, Hill JA, Hanley P, Ohland K, Kirstukas S, Hunter RE. Knee joint motion and ligament forces before and after ACL reconstruction. *J Biomech Eng* 1989; 111:97-106.
147. Lewis JL, Poff BC, Lindquist C, Engebretsen L, Lew WD. Method for establishing and measuring in vivo forces in an anterior cruciate ligament composite graft: response to differing levels of load sharing in a goat model. *J Orthop Res* 1994; 12:780-8.
148. Lewis PB, Parameswaran AD, Rue J-PH, Bach BR. Systematic review of single-bundle anterior cruciate ligament reconstruction outcomes. A baseline assessment for consideration of double-bundle techniques. *Am J Sports Med* 2008; 36:2028-36.
149. Lindemann K. Über den plastischen Ersatz der Kreuzbänder durch gestielte Sehnenverpflanzungen. *Z Orthop* 1950; 79:316.
150. Lipscomb AB, Johnston RK, Snyder RB. The technique of cruciate ligament reconstruction. *Am J Sport Med* 1981; 9:77-81.
151. Liu S, Yang R, al-Shaikh R, Lane J. Collagen in tendon, ligament, and bone healing. A current review. *Clin Orthop Relat Res* 1995; 318:265-78.
152. Longo UG, King JB, Denaro V, Maffulli N. Double-bundle arthroscopic reconstruction of the anterior cruciate ligament: Does the evidence add up? *J Bone Joint Surg (Br)* 2008; 90-B:995-9.
153. Losee RE, Johnson TR, Southwick WO. Anterior subluxation of the lateral tibial plateau. A diagnostic test and operative repair. *J Bone Joint Surg (Am)* 1978; 60-A:1015-30.
154. Ma C, Francis K, Towers J, Irrgang J, Fu F, Harner C. Hamstring anterior cruciate ligament reconstruction: a comparison of bioabsorbable interference screw and endobutton-post fixation. *Arthroscopy* 2004; 20:122-8.
155. MacIntosh DL, Darby TA. Lateral substitution reconstruction. *J Bone Joint Surg (Br)* 1976; 58-B:142.

156. Mae T, Shino K, Miyama T, Shinjo H, Ochi T, Yoshikawa H, et al. Single-versus two-femoral socket anterior cruciate ligament reconstruction technique: biomechanical analysis using a robotic simulator. *Arthroscopy* 2001; 17:708-16.
157. Maffulli N, Longo UG, Forriol F, King JB, Denaro V. Reconstrucción de las roturas del ligamento cruzado anterior con un único fascículo o con doble fascículo ¿está justificado plantear el dilema? *Trauma Fundación MAPFRE* 2008; 19 (supl 1): 44-7.
158. Majima T, Yasuda K, Tsuchida T, Tanaka K, Miyakawa K, Minami A, et al. Stress shielding of patellar tendon: effect on small-diameter collagen fibrils in a rabbit model. *J Orthop Sci.* 2003; 8:836-41.
159. Malinin TI, Levitt RL, Bashore C, Temple HT, Mnaymneh W. A study of retrieved allografts used to replace anterior cruciate ligaments. *Arthroscopy* 2002; 18:163-70.
160. Mar RB, Jones EC, Angel M, Wickiewicz TL, Warren RF. Beliefs and attitudes of members of the American Academy of Orthopedic Surgeons regarding the treatment of anterior cruciate ligament injury. *Arthroscopy* 2003; 19:762-70.
161. Marinozzi G, Pappalardo S, Steindler R. Human knee ligaments: mechanical tests and ultrastructural observations. *Ital J orthop Traumatol* 1983; 9:231-40.
162. Marder RA, Raskind JR, Carroll M. Prospective evaluation of arthroscopically assisted anterior cruciate ligament reconstruction. Patellar tendon versus semitendinosus and gracilis tendons. *Am J Sports Med* 1991; 19:478-84.
163. Markolf KL, Park S, Jackson SR, McAllister DR. Simulated Pivot-shift testing with single and double-bundle anterior cruciate ligament reconstructions. *J Bone Joint Surg (Am)* 2008; 90-A:1681-9.
164. Marshall JI, Warren RF, Wickiewicz TL. Primary surgical treatment of anterior cruciate ligament lesions. *Am J Sports Med* 1982; 10:103-7.
165. Martinek V, Latterman C, Usas A, Abramowitch S, Woo S, Fu F, et al. Enhancement of tendon-bone integration of anterior cruciate ligament grafts with bone morphogenetic protein-2 gene transfer: a histological and biomechanical study. *J Bone Joint Surg (Am)*. 2002; 84-A:1123-31.
166. Marui T, Niyibizi C, Georgescu H, Cao M, Kavalkovich K, Levine R, et al. Effect

- of growth factors on matrix synthesis by ligament fibroblasts. *J Orthop Res.* 1997; 15:18-23.
167. McMaster WC. Bovine enograft collateral ligament replacement in the dog. *J Orthop Res* 1985; 3:492-8.
168. McPherson GK, Mendenhall HV, Gibbons DF, Plenck H, Rottmann W, Sandford JB, et al. Experimental mechanical and histologic evaluation of the Kennedy ligament augmentation device. *Clin Orthop Rel Res* 1985, 196:186-95.
169. Miyakoshi N, Kobayashi M, Nozaka K, Okada K, Shimada Y, Itoi E. Effects of intraarticular administration of basic fibroblast growth factor with hyaluronic acid on osteochondral defects of the knee in rabbits. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2005; 125:683-92.
170. Miyasaka KC, Daniel DM, Stone ML. The incidence of knee ligament injuries in the general population. *Am J Knee Surg* 1991; 4:43-8.
171. Mockwitz J, Contzen H. Alloplastic correction of chronic knee ligament instability with polyethylene terephthalate. *Akt Probl Chir Orthop* 1983; 26:110-5.
172. Mommersteeg TJA, Kauer JMG, Huiskes R, Blankevoort L. Method to determine collagen density distributions in fibrous tissues. *J Orthop Res* 1993; 11:612-6.
173. Morgan CD, Kalmann VR, Grawl DM. Isometry testing for anterior cruciate ligament reconstruction revisited. *Arthroscopy.* 1995;11:647-659.
174. Muramatsu K, Hachiya Y, Izawa H. Serial evaluation of human anterior cruciate ligament grafts by contrast-enhanced magnetic resonance imaging: comparison of allografts and autografts. *Arthroscopy* 2008; 24:1038-44.
175. Murray M, Martin S, Martin T, Spector M. Histological changes in the human anterior cruciate ligament after rupture. *J Bone Joint Surg (Am).* 2000; 82-A: 1387-97.
176. Murray M, Spindler K, Abreu E, Muller J, Nedder A, Kelly M, et al. Collagen-platelet rich plasma hydrogel enhances primary repair of the porcine anterior cruciate ligament. *J Orthop Res.* 2007; 25:81-91.
177. Murray M, Weiler A, Spindler K. Interspecies variation in the fibroblast distribution of the anterior cruciate ligament. *Am J Sports Med.* 2004; 32:1484-91.

178. Neddermann A, Willbold E, Witte F, Hurschler C, Hankemeier S, Stübig T, et al. Tunnel widening after anterior cruciate ligament reconstruction. An experimental study in sheep. *Am J Sports Med* 2009; 37:1609-17.
179. Ng G, Oakes B, Deacon O, McLean I, Eyre D. Long-term study of the biochemistry and biomechanics of anterior cruciate ligament-patellar tendon autografts in goats. *J Orthop Res* 1996; 14:851-6.
180. Ng G, Oakes B, Deacon O, McLean I, Lampard D. Biomechanics of patellar tendon autograft for reconstruction of the anterior cruciate ligament in the goat: three-year study. *J Orthop Res*. 1995; 13:602-8.
181. Noyes FR, Barber S, Mangine RE. Bone-patellar ligament-bone and fascia lata allografts for reconstruction of the anterior cruciate ligament. *J Bone Joint Surg (Am)* 1990; 72-A:1125-36.
182. Noyes FR, Barber SD, Mangine RE. Abnormal lower limb symmetry determined by function hop tests after anterior cruciate ligament rupture. *Am J Sports Med* 1991; 19:513-8.
183. Noyes FR, Barber SD. The effect of an extra-articular procedure on allograft reconstructions for chronic ruptures of the anterior cruciate ligament. *J Bone Joint Surg (Am)* 1991; 73-A:882-92.
184. Noyes FR, Butler DL, Grood ES, Zernicke RF, Hefzy MS. Biomechanical analysis of human ligament grafts used in knee-ligament repairs and reconstructions. *J Bone Joint Surg (Am)* 1984; 66-A:344-52.
185. Noyes FR, Butler DL, Paulos LE, Grood ES. Intra-articular cruciate reconstructions. 1: Perspectives on graft strength, vascularization and immediate motion after replacement. *Clin Orthop Rel Res* 1983; 172:71-6.
186. Noyes FR, Mangine RE, Barber S. Early knee motion after open and arthroscopic anterior cruciate ligament reconstruction. *Am J Sports Med*, 1987; 15:149-60.
187. Noyes FR, Mooar PA, Matthews DS, Butler D. The symptomatic anterior cruciate-deficient knee. Part I: the long-term functional disability in athletically active individuals *J Bone Joint Surg (Am)* 1983; 65-A:154-62.
188. O'Donoghue DH. A method for replacement of the anterior cruciate ligament of the knee. *J Bone Joint Surg (Am)* 1963; 45-A:905-9.

189. Ohno K, Yasuda K, Yamamoto N, Kaneda K, Hayashi K. Effects of complete stress-shielding on the mechanical properties and histology of in situ frozen patellar tendon. *J Orthop Res* 1993; 11:592-602.
190. Paavolainen P, Makisalo S, Skutnabb K, Holmstrom T. Biologic anchorage of cruciate ligament prosthesis. Bone ingrowth and fixation of Gore-Tex ligament in sheep. *Acta orthop scand* 1993; 64:323-8.
191. Palmer I. On the injuries to the ligaments of the knee joint; clinical study. *Acta Chir Scand* 1938 (suppl 53).
192. Papageorgiou C, Ma C, Abramowitch S, Clineff T, Woo S. A multidisciplinary study of the healing of an intraarticular anterior cruciate ligament graft in a goat model. *Am J Sports Med*. 2001; 29:620-6.
193. Parry D, Barnes G, Craig A. A comparison of the size distribution of collagen fibrils in connective tissues as a function of age and a possible relation between fibril size distribution and mechanical properties. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*. 1978; 203:305-21.
194. Petersen W, Zantop T. Anatomy of the anterior Cruciate Ligament with regard to its two bundles. *Clin Orthop* 2006; 454:35-47.
195. Pfab B. Zur Blutgefassversorgung der Menisci und der Kreuzbänder. *Dtsch Z Chir* 1927; 205:258-64.
196. Pinczewski LA, Lyman J, Salmon LJ, Russell VJ, Roe J, Linklater J. A 10-year comparison of anterior cruciate ligament reconstructions with hamstring tendon and patellar tendon autograft: a controlled, prospective trial. *Am J Sports Med* 2007; 35:564-74.
197. Poehling GG, Curl WW, Lee CA, Ginn TA, Rushing JT, Stat M, et al. Analysis of outcomes of anterior cruciate ligament repair with 5-year follow-up: allograft versus autograft. *Arthroscopy* 2005; 21: 774-85.
198. Puddu G, Ippolito E. Reconstruction of the anterior cruciate ligament using the semitendinosus tendon. Histological study of a case. *Am J Sports Med* 1983; 11:14-6.
199. Pugh DI, Etherington DJ, Silver IA. Enzyme histochemistry of the response by naive and sensitized macrophages to phagocytosis of collagen and late particles. *Z Mikrosk Anat Forsch* 1985; 99:14-8.

200. Rauch G, Allzeit B, Gotzen L. Biomechanische Untersuchungen zur Zugfestigkeit des vorderen Kreuzbandes unter besonderer Berücksichtigung der Altersabhängigkeit. *Unfallchirurg* 1988; 91:437-43.
201. Robertson DB, Daniel DM, Biden E. Soft tissue fixation to bone. *Am J Sports Med*, 1986, 14:398-403.
202. Rodeo S, Arnoczky S, Torzilli P, Hidaka C, Warren R. Tendon-healing in a bone tunnel. A biomechanical and histological study in the dog. *J Bone Joint Surg Am*. 1993; 75-A:1795-803.
203. Rougraff B, Shelbourne K, Gerth P, Warner J. Arthroscopic and histologic analysis of human patellar tendon autografts used for anterior cruciate ligament reconstruction. *Am J Sports Med*. 1999; 21:277-84.
204. Rougraff B, Shelbourne K. Early histologic appearance of human patellar tendon autografts used for anterior cruciate ligament reconstruction. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 1999; 7:9-14.
205. Rudolph KS, Axe MJ, Buchanan TS, Scholz JP, Snyder-Mackler L. Dynamic stability in the anterior cruciate ligament deficient knee. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2001; 9:62-71.
206. Sandberg R, Balkfors B, Nilsson B, Westlin N. Operative versus non-operative treatment of recent injuries to the ligaments of the knee. A prospective randomized study. *J Bone Joint Surg (Am)* 1987; 69-A:1120-6.
207. Sasaki K, Kuroda R, Ishida K, Kubo S, Matsumoto T, Mifune Y, et al. Enhancement of tendon-bone osteointegration of anterior cruciate ligament graft using granulocyte colony-stimulating factor. *Am J Sports Med* 2008; 36:1519-27.
208. Scharstuhl A, Vitters E, van der Kraan P, van den Berg W. Reduction of osteophyte formation and synovial thickening by adenoviral overexpression of transforming growth factor beta/bone morphogenetic protein inhibitors during experimental osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2003; 48:3442-51.
209. Scheffler SU, Unterhauser FN, Weiler A. Graft remodeling and ligamentization after cruciate ligament reconstruction. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2008; 16:834-42.
210. Schmitz RJ, Ficklin TK, Shimokochi Y, Nguyen A-D, Beynon BD, Perrin DH, et al. Varus/valgus and internal/external torsional knee joint stiffness differs between sexes. *Am J Sports Med* 2008; 36:1381-8.

211. Schutte MJ, Dabezies EJ, Zimny ML, Happel LT. Neural anatomy of the human anterior cruciate ligament. *J Bone Joint Surg (Am)* 1987; 69-A:243-8.
212. Shelbourne KD, Gray T. Results of anterior cruciate ligament reconstruction based on meniscus and articular cartilage status at the time of surgery: five to fifteen-year evaluations. *Am J Sports Med* 2000; 28:446-52.
213. Shino K, Inoue M, Horibe S, Hamada M, Ono K. Reconstruction of the anterior cruciate ligament using allogeneic tendon: long term follow-up. *Am J Sports Med* 1990; 18:457-65.
214. Shino K, Inoue M, Horibe S, Nagano J, Ono K. Maturation of allograft tendons transplanted into the knee: an arthroscopic and histological study. *J Bone Joint Surg (Br)* 1988; 70B:556-60.
215. Shino K, Inoue M, Horibe S, Nakamura H, Ono K. Measurement of anterior instability of the knee. A new apparatus for clinical testing. *J Bone Joint Surg (Br)* 1987; 69-B:608-13.
216. Shino K, Inoue M, Horibe S, Nakata K, Maeda A, Ono K. Surface blood flow and histology of human anterior cruciate ligament allografts. *Arthroscopy* 1991; 7:171-6.
217. Shino K, Kimura T, Mirose H. Reconstruction of the anterior cruciate ligament by allogeneic tendon graft. *J Bone Joint Surg (Br)* 1986; 68-B:739-46.
218. Shino K, Nakata K, Nakamura N, Mae T, Ohtsubo H, Iwahashi T, et al. Anatomic anterior cruciate ligament reconstruction using two double-looped hamstring tendon grafts via twin femoral and triple tibial tunnels. *Op Tech Orthop* 2005; 15:130-4.
219. Simank HG, Graf J, Schneider U, Fromm B, Niethard FU. Die darstellung der Blutgefäßversorgung des menschlichen Kreuzbandes mit der Plastinationsmethode. *Z Orthop* 1995; 133:39-42.
220. Snyder – Mackler L, Fitzgerald GK, Bartolozzi AR, Ciccotti MG. The relationship between passive joint laxity and functional outcome after anterior cruciate ligament injury. *Am J Sports Med* 1997; 25:191-5.
221. Spindler K, Andrish J, Miller R, Tsujimoto K, Diz D. Distribution of cellular repopulation and collagen synthesis in a canine anterior cruciate ligament autograft. *J Orthop Res.* 1996; 14:384-9.
222. Spindler K, Kuhn J, Freedman K, Matthews C, Dittus R, Harrell FJ. Anterior cruciate ligament reconstruction autograft choice: bone-tendon-bone versus

- hamstring: does it really matter? A systematic review. *Am J Sports Med.* 2004; 32:1986-95.
223. Stäubli HU, Raushing W. Tibial attachment area of the anterior cruciate ligament in the extended knee position. Anatomy and cryosections in vitro complemented by magnetic resonance arthrography in vivo. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 1994; 2:138-46.
224. Steadman JR, Cameron-Donaldson ML, Briggs KK, Rodkey WG. A minimally invasive technique (“healing response”) to treat proximal ACL injuries in skeletal immature athletes. *J Knee Surg* 2006; 19:8-13.
225. Takahashi M, Doi M, Abe M, Suzuki D, Nagano A. Anatomical study of the femoral and tibial insertions of the anteromedial and posterolateral bundles of human anterior cruciate ligament. *Am J Sports Med* 2006; 34:787-92.
226. Tashman S, Collon D, Anderson K, Kolowich P, Anderst W. Abnormal rotational knee motion during running after anterior cruciate ligament reconstruction. *Am J Sports Med* 2004; 32:975-83.
227. Tien YC, Chih HW, Cheng YM, Su JY, Weng YP, Lin SY. The influence of the gap size on the interfacial union between the bone and the tendon. *Kaohsiung J Med Sci* 1999; 15:581-8.
228. Tohyama H, Yasuda K, Uchida H. Is the increase in type III collagen of the patellar tendon graft after ligament reconstruction really caused by “ligamentización” of the graft? *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2006; 14:1270-7.
229. Tomita F, Yasuda K, Mikami S, Sakai T, Yamazaki S, Tohyama H. Comparisons of intraosseous graft healing between the doubled flexor tendon graft and the bone-patellar tendon-bone graft in anterior cruciate ligament reconstruction. *Arthroscopy.* 2001; 17:461-76.
230. Torg JS, Conrad W, Kalen V. Clinical diagnosis of anterior cruciate ligament instability in the athlete. *Am J Sports Med.* 1976; 4:84-93.
231. Tsuchida T, Yasuda K, Kaneda K, Hayashi K, Yamamoto N, Miyakawa K, et al. Effects of in situ freezing and stress-shielding on the ultrastructure of rabbit patellar tendons. *J Orthop Res.* 1997; 15:904-10.
232. Unterhauser FN, Bosch U, Zeichen J, Weiler A. Alpha-smooth muscle actin containing contractile fibroblastic cells in human knee arthrofibrosis tissue. *Arch Orthop Trauma Surg* 2004; 124:585-91.

233. Valenti JR, Mora G, Valenti A, Aquerreta JD, Gonzalez MH. Has platelet-rich plasma any role in anterior cruciate ligament allograft healing? *Arthroscopy* 2009; 25:1206-13.
234. Valenti JR, Sala D, Schweitzer D. Anterior cruciate ligament reconstruction with fresh-frozen patellar tendon allografts. *Int Orthop* 1994; 18:210-4.
235. van Beuningen H, Glansbeek H, van der Kraan P, van den Berg W. Differential effects of local application of BMP-2 or TGF-beta 1 on both articular cartilage composition and osteophyte formation. *Osteoarthritis Cartilage* 1998; 6:306-17.
236. van Beuningen H, Glansbeek H, van der Kraan P, van den Berg W. Osteoarthritis-like changes in the murine knee joint resulting from intra-articular transforming growth factor-beta injections. *Osteoarthritis Cartilage* 2000; 8:25-33.
237. Vaquero J, Calvo JA, Forriol F. Reconstrucción del ligamento cruzado anterior. *Trauma Fundación MAPFRE* 2008; 19 (supl 1): 22-38
238. Vaquero J, Ramírez C, Villa A, Vidal, Forriol F, de Prado M, et al. Influencia del terrajado sobre la fuerza de extracción de los tornillos de interferencia. *Cuadernos de Artroscopia* 2000; 7:25-9.
239. Viernstein K, Keyl W. Operationen am Kniegelenk. En: B. Breitner (editor) *Chirurgische Operationslehre, T. IV/2*, Urban&Schwarzenberg, Munich 1973.
240. Wallace CD, Amiel D. Vascular assessment of the periarticular ligaments of the rabbit knee. *J Orthop Res* 1991; 9:787-91.
241. Walsh MP, Wijdicks CA, Armitage BM, Westerhaus BD, Parker JB, Laprade RF. The 1:1 versus the 2:2 tunnel-drilling technique: optimization of fixation strength and stiffness in an all-inside double-bundle anterior cruciate ligament reconstruction--a biomechanical study. *Am J Sports Med* 2009; 37:1539-47.
242. Walsh MS, Ford KR, Bangen KJ, Myer GD, Hewett TE. The validation of a portable force plate for measuring force-time data during jumping and landing tasks. *J Strength Cond Res*. 2006 Nov;20(4):730-4.
243. Webster DA, Werner FW. Mechanical and functional properties of implanted freeze-dried flexor tendons. *Clin Orthop* 1983, 180:238-43.

244. Webster KE, Wittwer JE, O'Brien J, Feller JA. Gait patterns after anterior cruciate ligament reconstruction are related to graft type. *Am J Sports Med* 2005; 33:247-54.
245. Weiler A, Peine R, Pashmineh-Azar A, Abel C, Südkamp NP, Hoffmann RF. Tendon healing in a bone tunnel. Part I: biomechanical results after biodegradable interference fit fixation in a model of anterior cruciate ligament reconstruction in sheep. *Arthroscopy* 2002; 18:113-23.
246. Weiler A, Unterhauser FN, Bail HJ, Huning M, Haas NP. Alpha-smooth muscle actin is expressed by fibroblastic cells of the ovine anterior cruciate ligament and its free tendon graft during remodeling. *J Orthop Res* 2002; 20:310-7.
247. Wilson T, Kantaras A, Atay A, Johnson D. Tunnel enlargement after anterior cruciate ligament surgery. *Am J Sports Med.* 2004; 32:543-9.
248. Witt AN, Jager M, Refior HJ, Wirth CJ. Das instabile Kniegelenk. *Arch Orthop Unfall-Chir* 1974; 78:362.
249. Wojttys EM, Huston LJ, Schock HJ, Boylan JP, Ashton-Miller JA. Gender differences in muscular protection of the knee in torsion in size-matched athletes. *J Bone Joint Surg (Am)* 2003; 85-A:782-9.
250. Woo SL-Y, Orlando CA, Camp JF, Akesson WH. Effects of post-mortem storage by freezing on ligament tensile behavior. *J Biomech* 1986~19:399-404.
251. Woo SL, Kanamori A, Zeminski J, Yagi M, Papageorgiou C, Fu FH. The effectiveness of reconstruction of the anterior cruciate ligament with hamstrings and patellar tendon. A cadaveric study comparing anterior tibial and rotational loads. *J Bone Joint Surg (Am)* 2002; 84-A:907-14.
252. Woo SLY, Vogrin T, Abramowitch S. Healing and repair of ligament injuries in the knee. *J Am Acad Ortho Surg* 2000; 8:364-72.
253. Yamazaki J, Muneta T, Ju YJ, Sekiya I. Differences in kinematics of single leg squatting between anterior cruciate ligament-injured patients and healthy controls. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2010; 18:56-63.
254. Yasuda K, Aoki Y, Tomiyama Y, Ohkoshi Y, Kaneda K. Maturation of autogenous tendon grafts in anterior cruciate ligament reconstruction of the human knee. An arthroscopic study. *Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi* 1989; 63:59-66.
255. Yoshikawa T, Tohyama H, Enomoto H, Matsumoto H, Toyama Y, Yasuda K. Expression of vascular endothelial growth factor and angiogenesis in patellar tendon grafts in the early phase after anterior cruciate ligament

- reconstruction. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2006; 14:804-10.
256. Zaffagnini S, De Pasquale V, Marchesini Reggiani L, Russo A, Agati P, Bacchelli B, et al. Neoligamentization process of BTPB used for ACL graft: histological evaluation from 6 months to 10 years. *Knee.* 2007; 14:87-93.
257. Zantop T, Ferretti M, Bell KM, Brucker PU, Gilbertson L, Fu F. Effect of tunnel-graft length on the biomechanics of anterior cruciate ligament reconstructed knees. *Am J Sport Med* 2008; 36:2158-66.
258. Zantop T, Petersen W, Sekiya JK, Musahl V, Fu FH. Anterior cruciate ligament anatomy and function relating to anatomical reconstruction. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2006; 14:982-92.
259. Zantop T, Ruemmler M, Welbers B, Langer M, Weimann A, Petersen W. Cyclic loading comparison between biodegradable interference screw fixation and biodegradable double cross-pin fixation of human bone-patellar tendon-bone grafts. *Arthroscopy* 2005; 21:934-41.
260. Zaricynj B. Reconstruction of the anterior cruciate ligament using free tendon graft. *Am J Sport Med*, 1983; 11:164-76.
261. Zarins B, Rowe CR. Combined anterior cruciate ligament reconstruction using semitendinosus tendon and iliotibial tract. *J Bone Joint Surg (Am)*. 1986; 68-A:160-177.
262. Zelle BA, Brucker PU, Feng MT, Fu FH Anatomical double-bundle anterior cruciate ligament reconstruction. *Sports Med* 2006; 36:99-108.
263. Zimny ML, Schutte M, Dabezies E. Mechanoreceptors in the human anterior cruciate ligament. *Anat Rec* 1986; 214:204-8.
264. Zimny ML, St Onge M, Schutte M. A modified gold chloride method of the demonstration of nerve endings in frozen sections. *Stain Technol* 1985; 60:305-6.
265. Zimny ML. Mechanoreceptors in articular tissue. *Am J Anat* 1988; 182:16-32.

ANEXO
Aportaciones científicas

Este estudio pertenece al [proyecto FIS \(PI09/1729\)](#)

“Integración de la plastia en los túneles, femoral y tibial, en la reconstrucción del ligamento cruzado anterior. Modelo experimental en oveja.

Investigador principal: Francisco Forriol

[Cartel científico](#)

Modelo experimental para la cirugía del LCA con plastia autóloga en ovejas

47º Congreso SECOT - 11th EFORT Congress

Madrid junio 2010

[Proyecto](#)

Envío trabajo a Revista Española de Cirugía Ortopédica y Traumatología

Integración de las plastias del LCA, evolución en el tiempo