

UAB

**Universitat Autònoma
de Barcelona**

**FACULTAT DE MEDICINA
Departament de Cirurgia**

TRASPLANTE MENISCAL

EFFECTO DE LOS MÉTODOS DE PRESERVACIÓN
Y RESULTADOS A MEDIO PLAZO

TESIS DOCTORAL:

Gemma González Lucena

Barcelona 2012

DIRECTORES:

Prof. Enric Cáceres Palou

Prof. Joan Carles Monllau Garcia



**Universitat
Autònoma
de Barcelona**

**Facultat de Medicina.
Càtedra de Traumatologia i
Cirurgia Ortopèdica.**



**Vall d'Hebron
Hospital**

Hospital Universitari Vall d'Hebron

El Prof. Enric Cáceres i Palou, Catedràtic de Cirurgia Ortopèdica i Traumatologia de la Universitat Autònoma de Barcelona,

CERTIFICA: Que el treball titulat "**Trasplante meniscal. Efecto de los métodos de preservación y resultados a medio plazo**" realitzada per la llicenciada **Gemma González Lucena**, i dirigida per mi, reuneix els requisits científics i formals per a procedir a la seva lectura i defensa per optar al grau de Doctor en Medicina i Cirurgia.

I per a què així consti a tots els efectes oportuns, firmo el present certificat a Barcelona, a vint-i-vuit de febrer de dos mil dotze.

Prof. Enric Cáceres i Palou

Barcelona, 28 de febrer del 2012

A Joan Carles

*A mis padres y hermana
A Andrea*



AGRADECIMIENTOS

Al Profesor Enric Cáceres por su incansable voluntad de formar a los residentes bajo su tutela, grupo al cual he tenido el honor de pertenecer, y por la confianza depositada en este proyecto.

Al Dr. Joan Carles Monllau por inculcarme el interés por nuestra especialidad desde el primer día y ser el artífice de esta línea de investigación. Por ser un referente tanto en los aspectos profesionales como personales de mi carrera y concederme oportunidades como ésta. Gràcies per tot.

Al Dr. Pablo Gelber por su importante y desinteresada aportación a este trabajo, sin la cual no hubiera sido posible llevarlo a cabo. Gracias pibe.

Al Dr. Manuel Ramírez por su asesoramiento en el apartado estadístico, y por su tutela en lo personal y profesional durante mis años de formación.

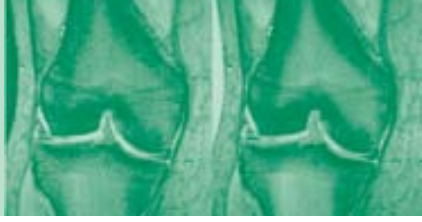
Al Dr. Xavi Pelfort por ser el residente mayor que todo residente pequeño querría tener.

Al Dr. Óscar Garcia-Casas por brindarme tantas oportunidades y tan valiosos consejos en los momentos cruciales y por estar ahí siempre. Gracias por su apoyo y por ser un amigo.

A los Doctores Albert y Raúl Torres por su inestimable colaboración en el contaje de fibras colágenas.

A todos los compañeros de los servicios de COT de los Hospitales Mar-Esperança (IMAS) de Barcelona, Parc Taulí de Sabadell y Santa Creu i Sant Pau de Barcelona que han facilitado mi transcurrir durante estos años, haciendo posible la elaboración de esta tesis.

Al Servicio de Anatomía Patológica del Hospital del Mar y a la Dra. Natalia García-Giralt del PRBB por su colaboración en los estudios de preservación meniscal.

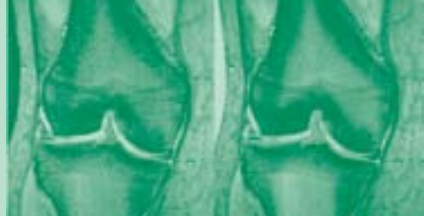


AGRADECIMIENTOS

A **Eric Goode** por su trabajo en la elaboración de los manuscritos que componen este compendio de publicaciones.

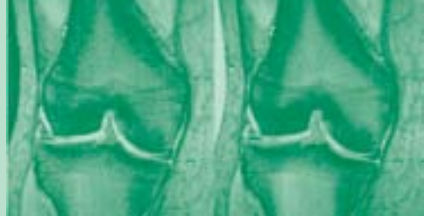
A **mi familia** porque sin ella nada de esto sería posible.

A **Andrea** por ser un soplo de aire fresco en mi vida.



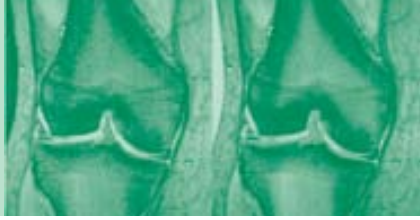
ÍNDICE

| | |
|--|----|
| RESUMEN | 1 |
| INTRODUCCIÓN | 2 |
| MENISCOS: ANATOMÍA Y FUNCIÓN MECÁNICA | 2 |
| PERSPECTIVA HISTÓRICA DEL TRASPLANTE MENISCAL | 8 |
| INDICACIONES / CONTRAINDICACIONES PRESERVACIÓN DE LOS INJERTOS..... | 10 |
| ASPECTOS INMUNOLÓGICOS..... | 13 |
| HIPÓTESIS DE TRABAJO | 14 |
| MATERIAL Y MÉTODO | 15 |
| FREEZING CAUSES CHANGES IN THE MENISCUS COLLAGEN NET: A NEW ULTRASTRUCTURAL MENISCUS DISARRAY SCALE | 15 |
| CRYOPRESERVATION DOES NOT ALTER THE ULTRAESTRUCTURE OF THE MENISCUS | 18 |
| MENISCAL ALLOGRAFT TRANSPLANTATION WITHOUT BONE BLOCKS: A 5- TO 8-YEAR FOLLOW-UP OF 33 PATIENTS | 19 |
| RESULTADOS | 23 |
| FREEZING CAUSES CHANGES IN THE MENISCUS COLLAGEN NET: A NEW ULTRASTRUCTURAL MENISCUS DISARRAY SCALE | 23 |
| CRYOPRESERVATION DOES NOT ALTER THE ULTRAESTRUCTURE OF THE MENISCUS | 26 |
| MENISCAL ALLOGRAFT TRANSPLANTATION WITHOUT BONE BLOCKS: A 5- TO 8-YEAR FOLLOW-UP OF 33 PATIENTS | 28 |
| DISCUSIÓN | 32 |
| FREEZING CAUSES CHANGES IN THE MENISCUS COLLAGEN NET: A NEW ULTRASTRUCTURAL MENISCUS DISARRAY SCALE | 32 |
| CRYOPRESERVATION DOES NOT ALTER THE ULTRAESTRUCTURE OF THE MENISCUS | 32 |
| MENISCAL ALLOGRAFT TRANSPLANTATION WITHOUT BONE BLOCKS: A 5- TO 8-YEAR FOLLOW-UP OF 33 PATIENTS | 35 |



ÍNDICE

| | |
|--|----|
| CONCLUSIONES | 40 |
| FREEZING CAUSES CHANGES IN THE MENISCUS COLLAGEN NET: A NEW ULTRASTRUCTURAL MENISCUS DISARRAY SCALE | 40 |
| CRYOPRESERVATION DOES NOT ALTER THE ULTRAESTRUCTURE OF THE MENISCUS | 41 |
| MENISCAL ALLOGRAFT TRANSPLANTATION WITHOUT BONE BLOCKS: A 5- TO 8-YEAR FOLLOW-UP OF 33 PATIENTS | 42 |
| COPIA DE LOS TRABAJOS | 43 |
| FREEZING CAUSES CHANGES IN THE MENISCUS COLLAGEN NET: A NEW ULTRASTRUCTURAL MENISCUS DISARRAY SCALE | 43 |
| CRYOPRESERVATION DOES NOT ALTER THE ULTRAESTRUCTURE OF THE MENISCUS | 51 |
| MENISCAL ALLOGRAFT TRANSPLANTATION WITHOUT BONE BLOCKS: A 5- TO 8-YEAR FOLLOW-UP OF 33 PATIENTS | 58 |
| BIBLIOGRAFÍA | 67 |
| APÉNDICES | 76 |



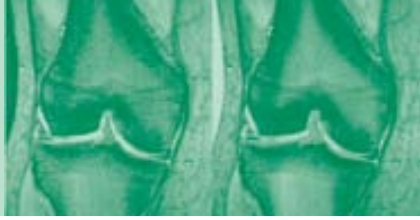
RESUMEN

El tratamiento de las lesiones meniscales ha evolucionado en las últimas décadas, debido a múltiples estudios que han puesto de relieve las importantes funciones de los meniscos y las consecuencias negativas de su extirpación a medio y largo plazo.

Dada la limitada capacidad de regeneración del tejido meniscal, hasta hace unos años se disponía de pocas opciones para el tratamiento del dolor persistente y la consiguiente degeneración articular precoz que presentaban los pacientes sometidos a una meniscectomía. El trasplante meniscal alogénico se inició en la década de los 80 (1) para intentar resolver esta cuestión y ha obtenido buenos resultados a medio plazo. Pese a estos resultados positivos, la capacidad de estos injertos para prevenir la degeneración artrósica se encuentra aún por demostrar (2-7).

Pese a que en los últimos años el trasplante meniscal se ha extendido ampliamente, y debido en parte a la gran heterogeneidad de las series publicadas, aún existe cierta controversia respecto a diversos aspectos, tales como la medición, la fijación o la preservación de los aloinjertos utilizados. El injerto ideal sería aquel menisco fresco que pudiera implantarse a las pocas horas de su extracción del donante, conservando así sus propiedades intactas. La necesidad de una ajustada correlación de tamaño, compartimento y lateralidad entre donante y receptor obligarían a una logística poco sostenible, similar a la utilizada en otro tipo de trasplantes. Por ello, los métodos más frecuentemente utilizados son la congelación y la criopreservación. En las dos primeras publicaciones que forman esta tesis se analiza el efecto de ambas técnicas sobre la ultraestructura y celularidad de los injertos meniscales y la implicación clínica que de ello pueda derivarse. Así mismo, se propone una nueva escala para la clasificación de la arquitectura meniscal, en función de diversos parámetros de su ultraestructura. Los resultados obtenidos sugieren que mientras la congelación altera la red colágena, la criopreservación no parece variar la ultraestructura meniscal.

El tercero de los trabajos de este compendio refleja los resultados clínicos a 5-8 años de una serie de trasplantes meniscales realizados mediante aloinjertos congelados sin tacos óseos, a través del análisis de sus resultados tanto funcionales como radiológicos. Dichos resultados, coincidiendo con la literatura existente, reflejan una mejoría clínica tras la cirugía, tanto a nivel de dolor como de actividad funcional.



INTRODUCCIÓN

MENISCOS: ANATOMÍA Y FUNCIÓN MECÁNICA

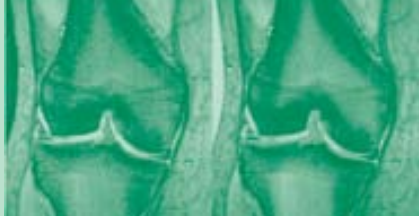


Fig 1. Preparación donde se aprecia la morfología en forma de C del menisco interno en comparación con el externo, más circular. (con permiso de Gelber et al, Cuadernos de Artroscopia)

Los dos fibrocartílagos meniscales son estructuras de unos 34mm de diámetro, interpuestas entre el fémur y la tibia, que promedian 110mm de longitud cuando se miden en su margen más periférico, considerando también sus ligamentos de inserción. El menisco interno posee un aspecto similar a una C en comparación con el externo, que es más circular; porque mientras este último tiene las inserciones de sus astas anterior y posterior en el área no articular del platillo tibial, las del menisco interno se insertan en los extremos anterior y posterior del área intercondílea.

En general, los meniscos de la rodilla son más estrechos en sus astas anteriores y se van ensanchando posteriormente, de forma más clara en el menisco interno. Ambos meniscos presentan un grosor decreciente de la periferia hacia el centro y actúan principalmente como estructuras fibroelásticas compensatorias de la escasa congruencia articular entre el fémur y la tibia, con el objetivo primordial de evitar la lesión del cartílago articular. Son estructuras que se hallan de forma constante en las rodillas de todos los mamíferos, pero con sustanciales peculiaridades en el ser humano, fundamentalmente debido a su particular biomecánica bipodal.

De gran importancia anatómica y funcional son sus potentes inserciones óseas (denominados también "frenos meniscales"), que proceden de las astas anterior y posterior, y que juegan un papel importante en la distribución de cargas (8).



INTRODUCCIÓN

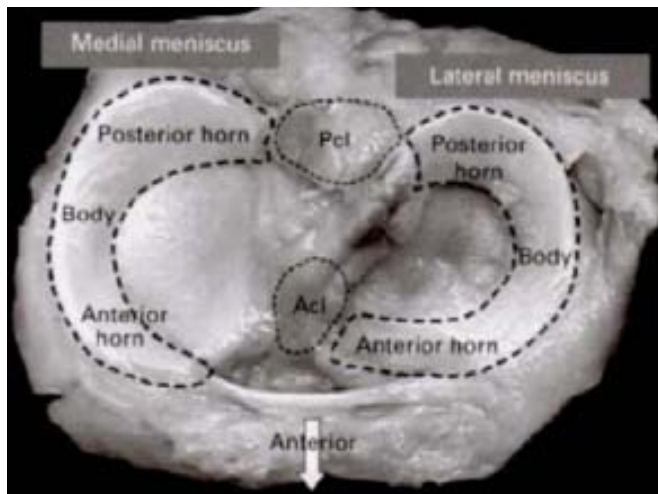


Fig 2. Inserciones meniscales y sus relaciones (figura cedida por Mc Dermott, JBJS Br)

Anatomía funcional y biomecánica

La escasa congruencia articular entre las superficies femoral convexa y tibial plana (platillo interno) o incluso convexa (platillo externo), se ve substancialmente aumentada por la concavidad de la superficie meniscal superior; como consecuencia, el estrés sobre el cartílago articular de la tibia se ve reducido (8).

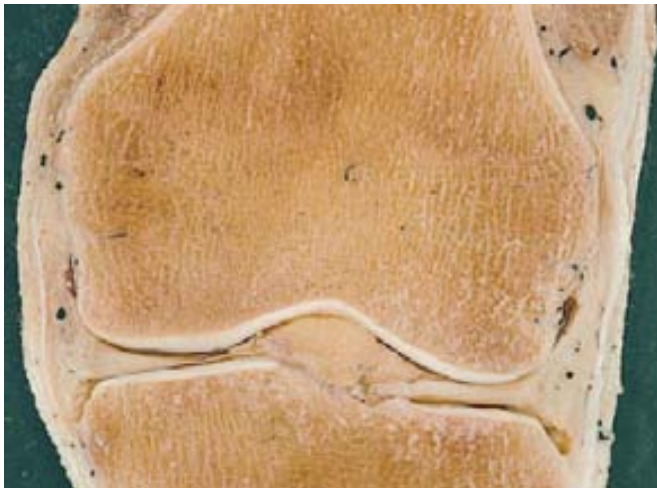
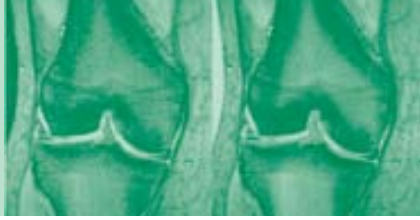


Fig. 3. Los meniscos aumentan la congruencia de las superficies articulare femoro-tibiales. (con permiso de Gelber et al, Cuadernos de Artroscopia)

La carga sobre la tibia se transmite en un 70% a través del menisco externo y en un 50% a través del interno (9). Esta transmisión de carga aumenta a medida que lo hace la flexión y se realiza principalmente a través de los segmentos meniscales posteriores. La eficacia en la distribución y transmi-



INTRODUCCIÓN

sión de cargas se creen explicadas por las potentes inserciones de las astas meniscales, las cuales previenen la extrusión meniscal que se produciría al recibir una carga axial.

La capacidad de absorción y redistribución de cargas se halla también favorecida por la particular ultraestructura meniscal, dentro de la cual las fibras de colágeno dispuestas longitudinalmente, convierten las cargas axiales en fuerzas circunferenciales, efecto denominado "hoop stress" en la literatura anglosajona.

La importancia de los meniscos en la amortiguación y distribución de la carga fue observada en los trabajos clásicos de King (10) y Fairbank (11). Ambos autores constataron la existencia de una relación directa entre meniscectomía y degeneración del compartimento respectivo. Una rodilla sin su fibrocartilago meniscal ve disminuida la superficie de contacto femorotibial un 75% y aumentada la carga hasta en un 235%.

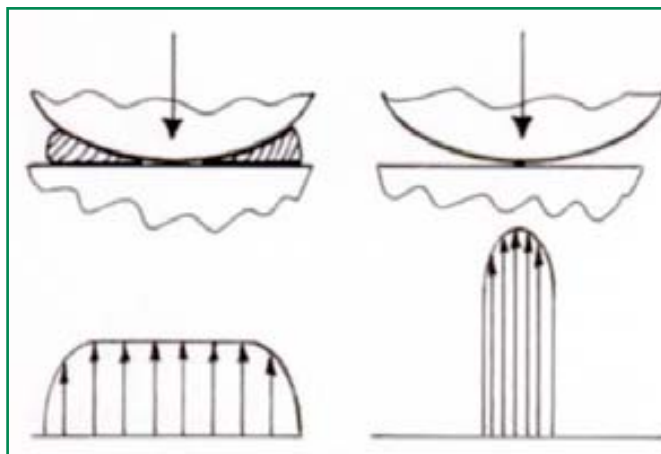
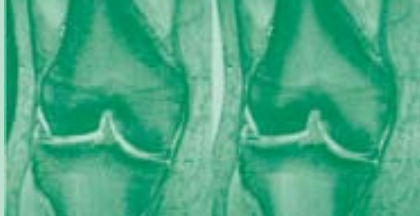


Fig 4. La meniscectomía hace que disminuya la zona de contacto entre superficies, haciendo que las cargas se concentren (figura cedida por McDermott, JBJS Br).

Los meniscos son estructuras que acompañan a los cóndilos femorales durante el movimiento de flexo-extensión; este efecto es más claramente manifiesto en el compartimento externo. Esta movilidad es más importante en los sectores anteriores de los meniscos, posiblemente debido a las uniones meniscorotulianas. También es importante el movimiento del asta posterior del menisco externo, condicionado por sus uniones con el tendón del músculo poplíteo y el complejo arqueado. Estas últimas estructuras determinan una traslación posterior del asta meniscal al producirse la rotación interna de la tibia, principalmente mientras se inicia la flexión desde la extensión completa (8).



INTRODUCCIÓN

También es conocido el papel de estabilizador antero-posterior secundario que ejercen los meniscos. Dicho efecto es especialmente evidente en casos de insuficiencia del LCA, donde la resección meniscal comporta una mayor laxitud articular (12).

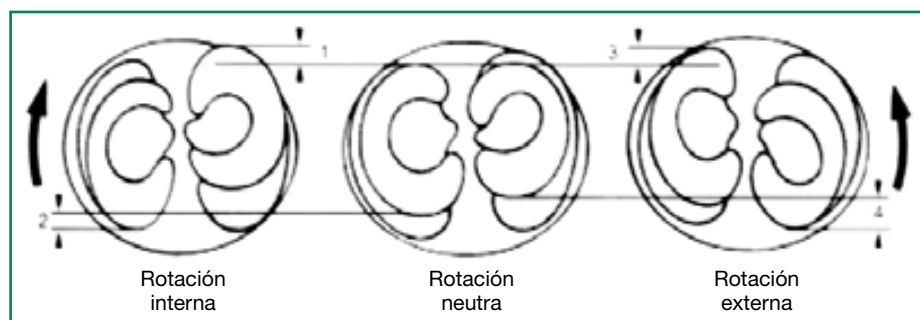


Fig 5. Esquema de la cinética meniscal durante las rotaciones

Composición del tejido meniscal

El principal componente es el agua, que supone el 72% del contenido meniscal, proporción más acentuada en las zonas meniscales posteriores. Del resto, las fibras de colágeno constituyen el 78% del contenido, mientras que el 8% son proteínas no colágenas y un 1% hexosamina. El componente celular es escaso, en las capas más superficiales está caracterizado por células fusiformes dispuestas de forma paralela, con características mixtas entre fibroblastos y condrocitos. En los estratos más profundos las células presentan una forma más ovoide o poligonal. Es característica la ausencia de células con capacidad migratoria del sistema inmune.

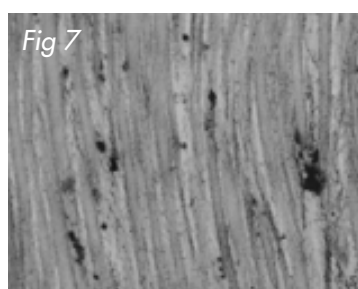
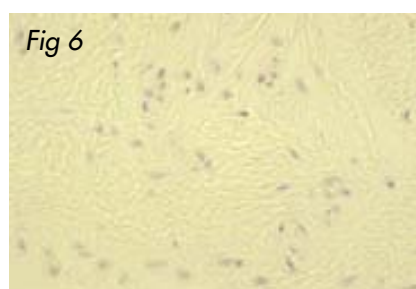
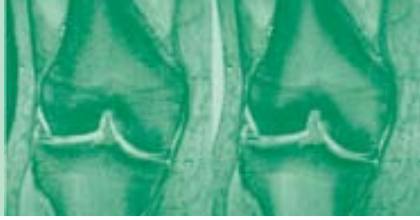


Fig 6. Imagen histológica de la distribución de fibras de colágeno y condrocitos.

Fig 7. Imagen de microscopía electrónica donde se evidencia la organización en paralelo de las fibras de colágeno.



INTRODUCCIÓN

La densa arquitectura meniscal está formada básicamente por fibras de colágeno tipo I (90% del total), preponderantemente dispuestas de forma circunferencial, característica más manifiesta en los cuerpos meniscales, pese a que también hallamos del tipo II en la zona central o avascular.

Las fibras se organizan de forma longitudinal y radial, aunque también existen distribuidas al azar que ocupan la región intermedia central.

Las fibras radiales, más escasas, parece que sirven de anclaje de las circunferenciales, oponiéndose a la ruptura longitudinal del menisco. Una característica de los otros tipos de colágeno (tipos II, III i V) y proteínas no colágenas es que se hallan claramente disminuidos en las zonas de degeneración meniscal. Por último, los proteoglicanos encontrados son en un 40% del tipo condroitin 6 sulfato, 10 a 20% de condroitin 4 sulfato, 20 a 30% de dermatan sulfato y un 15% de keratan sulfato. Estos glicosaminoglicanos se hallan en mayor proporción en las zonas centrales de los meniscos (8).

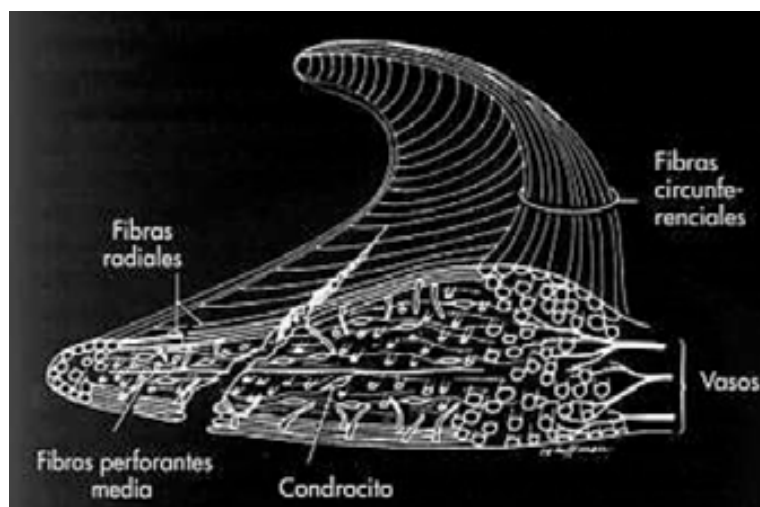
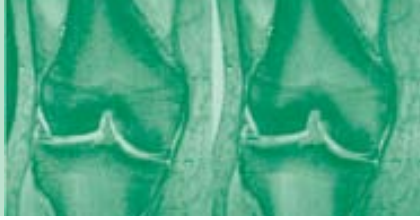


Fig. 8. Esquema de las diferentes distribuciones de las fibras de colágeno dentro de la estructura meniscal.

Nutrición meniscal

La conocida irrigación que sólo alcanza el tercio periférico de los meniscos es una característica que se va adquiriendo con los primeros meses de vida, ya que en el momento del nacimiento todo el menisco se encuentra vascularizado. El trabajo clásico de Arnoczky y Warren de 1982 nos mostraba como el plexo capilar parameniscal, formado a partir de ramas de las arterias ge-



INTRODUCCIÓN

niculadas laterales y mediales, se distribuye centrípetamente penetrando una media del 10-30% en el menisco interno y del 10-25% en el externo (13).

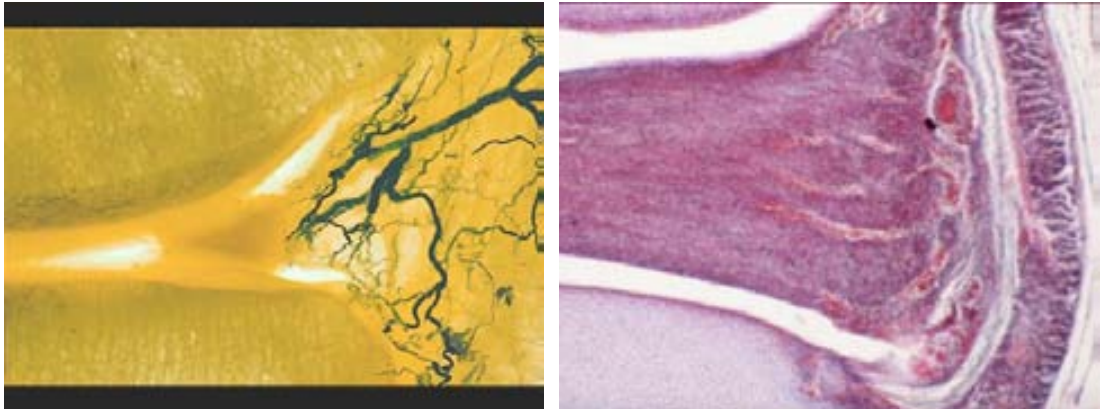


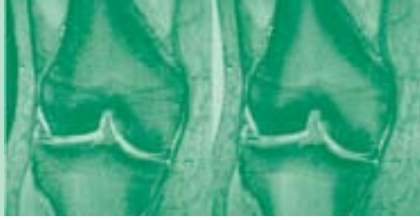
Fig 9 y 10. Preparaciones que muestran como el plexo capilar parameniscal penetra hasta irrigar la parte periférica del menisco (con permiso de Gelber et al, Cuadernos de Artroscopia).

Las capas más profundas se nutren por difusión, siendo necesario para ello que el menisco conserve su estructura colágena normal.

Por otro lado, a nivel de las astas anterior y posterior se evidencia una mayor densidad vascular en comparación con el cuerpo meniscal.

Inervación

El tejido perimeniscal se halla ricamente inervado. La mayor concentración de estructuras nerviosas se localiza en las astas meniscales y son mecanorreceptores del tipo III (Golgi), aunque también se describen de los tipos I y II. Es por ello que a estas regiones del fibrocartilago se les asigna un importante papel propioceptivo. Los cuerpos meniscales, igual que sucede con la irrigación, presentan una menor densidad de fibras nerviosas, predominando en este caso las terminaciones libres (13). Parece ser pues que los meniscos son capaces de emitir impulsos aferentes de importancia para la función biomecánica de la articulación (8).



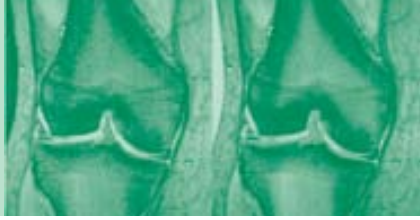
INTRODUCCIÓN

PERSPECTIVA HISTÓRICA DEL TRASPLANTE MENISCAL

A principios de siglo XX, King demostró los cambios degenerativos tras la meniscectomía en un modelo experimental canino (10). Algunos años después, Fairbank describió los mismos cambios artrósicos en rodillas humanas meniscectomizadas (11). Muchos investigadores desde entonces han confirmado los hallazgos de Fairbank (14-16). Los cambios son debidos a la pérdida de alguna de las funciones biomecánicas meniscales (9,17), estableciéndose que la pérdida de tejido meniscal aumenta considerablemente las fuerzas de contacto en el compartimento meniscectomizado (18).

Pese a todo, la meniscectomía total fue el tratamiento de elección durante mucho tiempo, proporcionando excelentes resultados clínicos a corto plazo, aunque los resultados a largo plazo no fueran buenos, debido al deterioro articular. Por ello, el uso de técnicas más conservadoras, tales como la meniscectomía parcial y la sutura meniscal ha aumentado, especialmente desde la aparición de la artroscopia. Pese a todo, pocas lesiones meniscales cumplen los criterios aceptados para una adecuada reparación.

Más recientemente, se ha introducido un nuevo enfoque en el tratamiento de las lesiones meniscales: la sustitución del tejido dañado junto a la prevención de la progresiva degeneración articular. Para ello se inició el trasplante meniscal alógeno (TMA) en la práctica clínica. El trasplante de menisco como injerto libre se desarrolló en Alemania a mediados de los 80 (1). Sin embargo, dos equipos norteamericanos habían utilizado injertos osteocondrales masivos conservados en fresco para la reconstrucción de defectos post-traumáticos en mesetas tibiales 10 años antes (19,20). Pese a que el efecto condroprotector, uno de los objetivos principales del TMA, ha permanecido sin establecer durante años, recientemente algunos trabajos a largo plazo apoyan el efecto profiláctico del trasplante (21,22). No obstante, diversos aspectos tanto del injerto como del procedimiento son todavía objeto de controversia; siendo las características del injerto, la preservación, el tamaño y la inmunogenicidad los temas más debatidos.

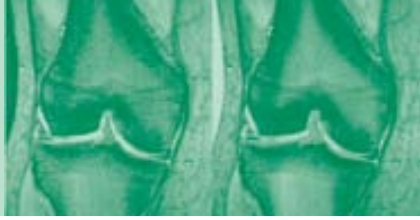


INTRODUCCIÓN

INDICACIONES / CONTRAINDICACIONES TRASPLANTE MENISCAL

Existe un consenso general para la indicación del TMA. La indicación más frecuente es el dolor compartimental debido a una meniscectomía previa en un paciente no candidato a prótesis de rodilla. El paciente debe presentar lesiones condrales limitadas y una rodilla normoalineada y estable.

Las contraindicaciones absolutas incluyen enfermedades sistémicas o inflamatorias, la obesidad ($IMC > 30$) y la inmunodeficiencia. Algunas condiciones locales, tales como cualquier tipo de artritis (séptica, metabólica o inflamatoria) o enfermedades sinoviales se consideran también contraindicaciones. Una contraindicación relativa se considera su uso en pacientes esqueléticamente inmaduros, debido a que se desconoce la capacidad de crecimiento del injerto. La degeneración avanzada de la articulación se ha considerado una contraindicación, pese a que algunos investigadores han observado buenos resultados en esta subpoblación (4,23).

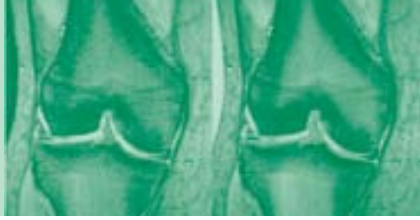


INTRODUCCIÓN

PRESERVACIÓN DE LOS INJERTOS

Los injertos meniscales han sido preservados de 3 formas diferentes: congelados, liofilizados o criopreservados. La liofilización y la congelación destruyen las células viables del tejido conectivo y desnaturalizan los antígenos de histocompatibilidad, convirtiendo los injertos congelados en menos inmunógenos (24). Aunque los injertos congelados y liofilizados mostraban similar resistencia tensional meses después del trasplante en rodillas de ovejas, no conseguían igualar los valores de los meniscos normales (25). En un estudio clínico, Milachowski et al (1) llevaron a cabo una artroscopia de revisión a 15 de 22 pacientes trasplantados y describieron el fenómeno de retracción en 1 de los 5 injertos congelados y en 9 de los 10 liofilizados y esterilizados con radiaciones gamma. Uno de estos últimos injertos se hallaba completamente destruido. Todos los injertos liofilizados se remodelaron y revascularizaron de forma completa a las 48 semanas, mientras que los congelados mostraban una discreta remodelación y revascularización. Este proceso de remodelación de los injertos liofilizados se ha visto acompañado de una significativa reducción de las dimensiones de los injertos en diversos estudios (26,27). De manera similar, el uso de radiaciones gamma puede ser, al menos parcialmente, responsable de los pobres resultados de los trasplantes con meniscos liofilizados, si se comparan con otros tipos de injertos. Además, se han observado más frecuentemente casos de sinovitis y derrames después del trasplante de meniscos liofilizados que de injertos congelados o frescos (1,28). Todos estos hallazgos sugieren que la liofilización no es un método apropiado para el procesamiento de injertos meniscales.

Algunos estudios han utilizado glutaraldehído para preservar injertos meniscales, que resulta tóxico para las células donantes pero preserva la matriz de colágeno. Canham y Stanish (29) evaluaron injertos tratados con glutaraldehído en 5 perros y hallaron resultados menos satisfactorios en cuanto a la integración y a derrames de repetición comparados con autoinjertos y aloinjertos preservados durante 2-3 semanas en medio de cultivo. Estos hallazgos son consistentes con otros de Powers et al (30), que también hallaron retracción y cambios degenerativos articulares 12 semanas después de trasplantar injertos preservados en glutaraldehído en perros. Además, los productos tóxicos que permanecen en el injerto se han visto relacionados



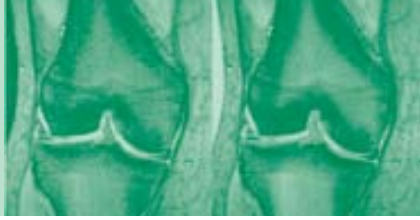
INTRODUCCIÓN

con sinovitis crónicas (31). Por estas razones, la preservación de los injertos meniscales con glutaraldehído ha sido abandonada.

La criopreservación, que normalmente se realiza ultracongelando a -180°C y añadiendo dimetil sulfóxido o glicerol, preserva al menos parcialmente la integridad de la membrana celular y la viabilidad de los condrocitos del donante (32). Pese a todo, el porcentaje de células viables disminuye con el tiempo de almacenamiento (33). Además, no se aplican técnicas secundarias de esterilización que afecten a la viabilidad celular, por lo que aumenta el riesgo de transmisión de enfermedades del donante. En un estudio en cabras, Fabbriciani et al (34) comparaban injertos criopreservados y congelados y no hallaron diferencias entre los dos grupos en cuanto al aspecto y la integración. Arnoczky et al (33) demostraron que las propiedades mecánicas de los injertos criopreservados trasplantados en perros eran similares a las de los meniscos normales después de 6 meses.

Los injertos frescos serían el tipo ideal de trasplante porque el tejido fresco contiene un gran número de células viables. Verdonk (35) trasplantó 40 meniscos frescos en 36 pacientes y halló intactos todos los injertos, utilizando RMN en todos los casos y revisión artroscópica en 12 de ellos. Diversos estudios sugieren que una población de condrocitos viables puede tener un efecto beneficioso sobre el mantenimiento de la matriz extracelular y la integridad mecánica del injerto después del trasplante (36,37). Estos datos junto a los cambios observados en las propiedades del cartílago articular después de ser trasplantado (38,39) habían convertido a la viabilidad celular en uno de los objetivos de los métodos de preservación. Los injertos frescos pueden mantenerse a 4°C en medio de cultivo estéril durante 7 días sin pérdida de viabilidad (40). En la práctica clínica, la disponibilidad de trasplantes frescos es limitada y la imposibilidad de hacer corresponder las dimensiones meniscales del donante con las del receptor puede limitar todavía más la aplicabilidad de este tipo de injerto. Así mismo, el riesgo de transmisión de enfermedades es mayor en injertos no procesados, porque las serologías pueden hallarse incompletas antes del trasplante, y los métodos secundarios de esterilización no se utilizan ya que destruirían las células viables del donante.

Por otro lado, Jackson et al (41) realizaron un análisis de ADN después de trasplantes en cabras, y demostraron que el ADN del donante en el menisco trasplantado se encontraba completamente reemplazado por el del huésped

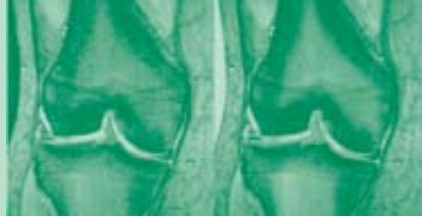


INTRODUCCIÓN

a las 4 semanas de la cirugía. Estos hallazgos coinciden con los de DeBeer et al (42) que apuntan que en injertos humanos criopreservados el 95% de las células del donante son reemplazadas por células huésped un año después del trasplante. A raíz de estos datos se ha puesto en duda la necesidad de la viabilidad celular en el momento del trasplante, por lo que la utilización de meniscos preservados en bancos de tejidos sigue siendo la práctica mayoritaria.

El coste económico y la dificultad de las técnicas de criopreservación hacen que, actualmente, su utilización no se encuentre generalizada debido a que los injertos congelados trasplantados han mostrado resultados similares.

Resumiendo, podría decirse que el papel de la viabilidad celular en los resultados de los trasplantes meniscales no queda claro a día de hoy y que hasta el momento no existe evidencia de que el coste adicional de los injertos criopreservados o en fresco justifique unos mejores resultados. La utilización de los injertos liofilizados y preservados con gluteraldehído no está recomendada.



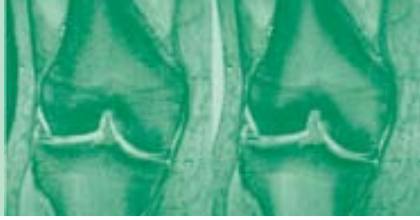
INTRODUCCIÓN

ASPECTOS INMUNOLÓGICOS

Los meniscos son considerados inmunoprivilegiados debido a que sus células se encuentran dentro de una matriz no accesible a las células inmunoreactivas (43). La mayoría de estudios clínicos y experimentales muestran que los TMA no presentan signos macro ni microscópicos de respuesta inmunológica sistémica o localizada (19,36,44). Pese a ello, Hamlet et al (45) han presentado un caso de presunto rechazo agudo en un injerto criopreservado. Además, Wada (46) describe que los injertos frescos en ratas sin inmunosupresión producen evidencia histológica de rechazo, mientras que los injertos en ratas inmunosuprimidas tenían una supervivencia superior a las 21 semanas. En un estudio experimental con conejos, Rijk y Van Noorden (47) observan una moderada proliferación del tejido sinovial que rodeaba los injertos meniscales, coincidiendo con los hallazgos de Ochi et al (48). No encontraron, en cambio, evidencia de rechazo de los injertos. Khoury et al (49) demostraron la presencia de antígenos de histocompatibilidad de clase I y II en las células de los injertos meniscales, indicando la posibilidad de una respuesta inmune. Además, Van Arkel et al (50) demostraron sensibilización a los antígenos leucocitarios de clase I y II en 11 de 18 receptores de injertos criopreservados sin objetivarse evidencia clínica de rechazo. Rodeo et al (51) hallaron un pequeño número de células inmunológicamente activas (linfocitos B y/o células T citotóxicas) en la mayoría de los injertos trasplantados en humanos. La presencia de estas células sugieren una reacción inmune sutil que podría modular la curación, integración y revascularización del injerto.

Se ha visto que los aloinjertos óseos tienden a ser más antigénicos que los meniscales (52,53), por lo que los injertos meniscales pueden tener mayor riesgo de despertar una reacción inmune si son trasplantados con bloques óseos. Pese a todo, Zukor et al (19) trasplantaron injertos frescos junto a injertos osteocondrales sin hallar respuesta inmunológica durante un seguimiento medio de 4.5 años.

Así pues, parece ser que existe cierta respuesta inmune después del trasplante meniscal, pero su importancia todavía no queda clara. En general, parece no tener repercusión clínica, es decir, no comporta el rechazo o fracaso del injerto.



INTRODUCCIÓN

HIPÓTESIS DE TRABAJO

Las hipótesis de trabajo se basan en tres estudios relacionados con el trasplante meniscal. En la primera parte de la tesis se exponen dos estudios in vitro sobre los efectos de la congelación y la criopreservación sobre los aloinjertos meniscales, analizando el tamaño de las fibras de colágeno y el grado de desestructuración de su arquitectura, comparándolas en ambos casos con injertos en fresco como grupo control.

Presentamos a su vez una nueva escala cuantitativa/cualitativa de arquitectura meniscal con el objetivo de clasificar el grado de desestructuración del colágeno causado por diferentes condicionantes.

En la segunda parte de la tesis, se presentan los resultados de un estudio clínico basado en una serie de 33 aloinjertos meniscales congelados fijados sin bloques óseos.

Hipótesis de trabajo 1

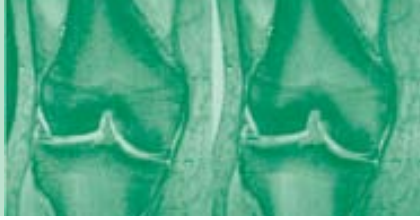
La congelación altera las características de los injertos meniscales.

Hipótesis de trabajo 2

La criopreservación preserva la estructura colágena y la celularidad de los injertos meniscales.

Hipótesis de trabajo 3

El trasplante meniscal utilizando injertos meniscales congelados sin fijación ósea mejora tanto los resultados funcionales como los radiológicos de la rodilla en pacientes meniscectomizados.



MATERIAL Y MÉTODO

El material y método se corresponde con cada uno de los trabajos que componen este compendio de publicaciones y que se adjuntan a partir de la página 62.

OJO VER PAGINA

Trabajo nº 1

Gelber PE, Gonzalez G, Lloreta JL, Reina F, Caceres E, Monllau JC.

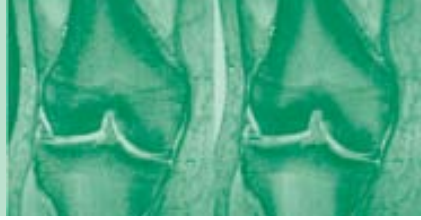
Freezing causes changes in the meniscus collagen net: a new ultrastructural meniscus disarray scale.

Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc 2008; 16 (4): 353-359.

Se utilizaron 26 meniscos externos obtenidos durante la cirugía de prótesis total de rodilla en pacientes con genu varo, dividiéndose dichos meniscos en 2 grupos: 13 meniscos fueron congelados a -80°C durante una semana y los otros 13 se utilizaron como controles. Ambos grupos eran comparables en cuanto a lateralidad, sexo y edad. Se obtuvo 1cm^2 del cuerpo de cada menisco, seccionándolo en fragmentos de 1mm^3 que fueron procesados para su estudio anatómico-patológico.

Se diseñó un estudio a doble ciego utilizándose microscopía de transmisión de electrones (MTE) para cuantificar las variables de la estructura meniscal relacionadas con la funcionalidad de los injertos. Éstas se hallaban descritas en la literatura previa: el grado de disrupción de las fibras, el edema intrafibrilar, el grado de empaquetamiento del colágeno o "packing", la variabilidad de tamaño de las fibras de colágeno y la disposición en bandas o "banding" de los filamentos de las fibras. Se realizaron fotografías a 19000 aumentos incluyendo 400 fibras de colágeno en secciones transversales y longitudinales para cada menisco.

Con las variables de estructura meniscal anteriormente mencionadas se creó una nueva escala cuantitativa/cualitativa de arquitectura meniscal para determinar el grado de desorden del colágeno, clasificando las muestras en 3 grados. El edema intrafibrilar y la pérdida de "banding" fueron los hallazgos más frecuentes, considerándose anormales cuando se encontraban presentes en más del 20% de las fibras. Cuando las muestras puntuaban 0-2 se clasificaron como normal o grado I. Tres o cuatro puntos se consideró que



MATERIAL Y MÉTODO

representaban cambios moderados en la ultraestructura, clasificándose como grado II. Finalmente, los meniscos con mayor grado de desorden estructural, puntuando 5, 6 o 7 en la escala, fueron clasificados como grado III.

Así mismo se realizó la medición de las secciones longitudinales y transversales de las fibras de colágeno con la ayuda de un calibrador electrónico digital.

Tras la comprobación de la normalidad de las variables, se realizó el análisis estadístico mediante la t de Student. Para comparar los datos categóricos entre grupos se utilizó la chi-cuadrado de Pearson o test exacto de Fisher. El software utilizado fue el SPSS 12, estableciéndose la significación estadística en 0.05.

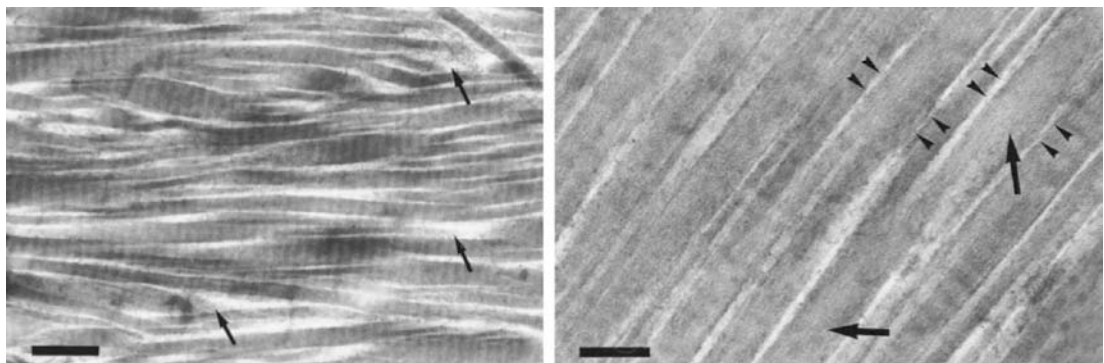
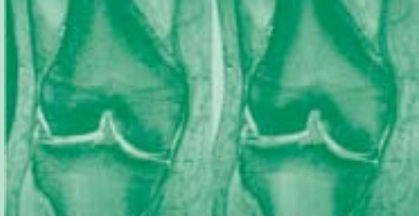


Fig 11. Micrografías de transmisión de electrones de una sección de trasplante meniscal
 A. Se aprecia *disrupción* (flechas) de las fibras y *pérdida de "banding"* de las fibrillas de colágeno.
 B. Fibrillas de colágeno *edematosas* (cabezas flecha) y con *pérdida de periodicidad* (flechas).

| | 0 puntos | 1 punto | 2 puntos |
|-------------------------|---------------|------------|---------------|
| Disrupción/periodicidad | Ligera | Moderada | Severa |
| Edema intrafibrilar | No | Sí | – |
| Empaquetamiento | Alta densidad | Intermedia | Baja densidad |
| Disposición en banda | Sí | No | – |
| Variabilidad tamaño | Baja | Alta | – |

Tabla 1. Escala de arquitectura colágena meniscal

Cada sección de tejido fue puntuada según 5 variables. El edema intrafibrilar así como la ausencia de "banding" se consideró positiva cuando se hallaba en más del 20% de las fibras. Grado I: 0-2 puntos, grado II: 3-4 puntos, grado III: 5-7 puntos.



MATERIAL Y MÉTODO

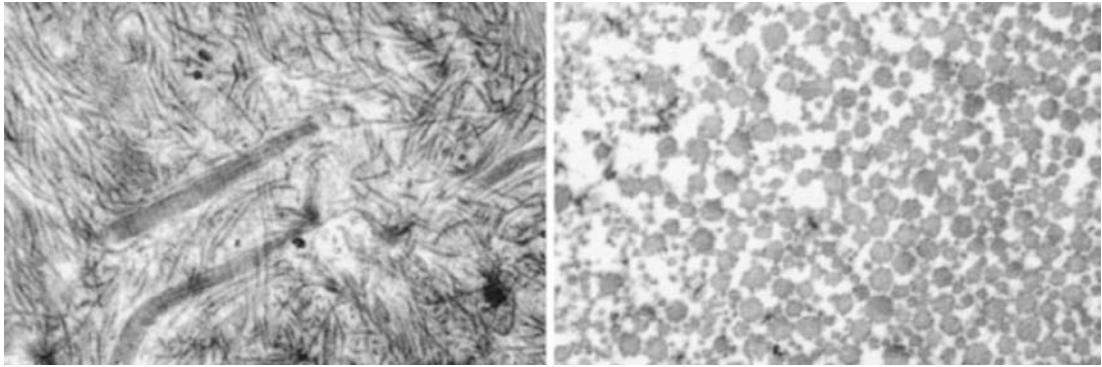


Fig 12. Fotografías MTE de un menisco grado I

- a) Sección longitudinal: normal o ligera disrupción de la arquitectura (0 puntos), edema intrafibrilar poco frecuente (0p), disposición en banda preservada (0p).
 b) Sección transversal: alta densidad de empaquetamiento (0p) y tamaño de las fibras homogéneo (0p).

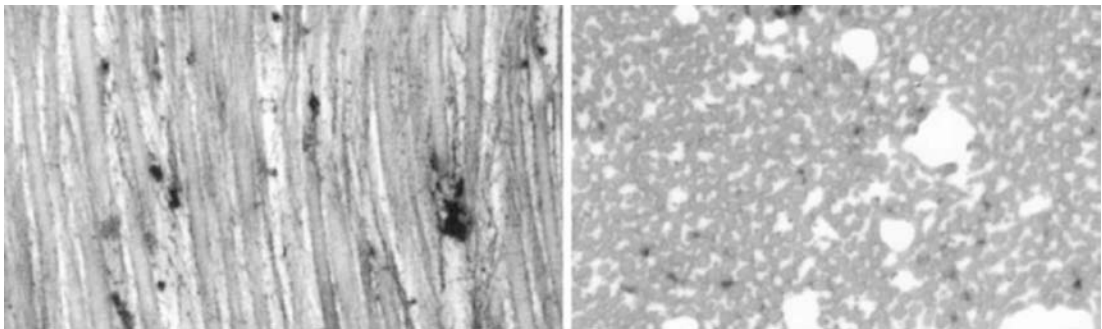


Fig 13. Fotografías MTE de un menisco grado II

- a) Sección longitudinal: moderada disrupción de la arquitectura (1p), edema intrafibrilar (1p), pérdida de disposición en banda (1p).
 b) Sección transversal: grado intermedio de empaquetamiento (1p) y baja variabilidad de tamaño de las fibras (0p).

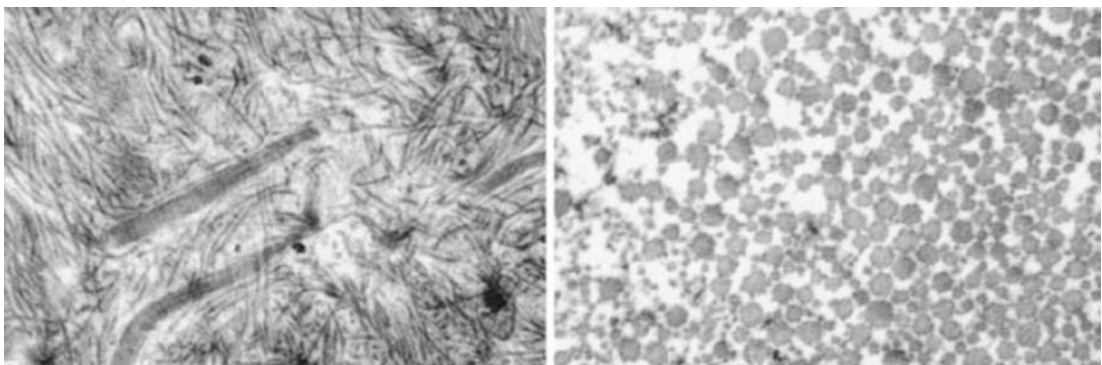
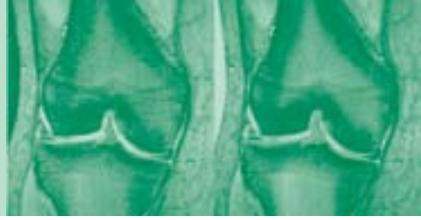


Fig 14. Fotografías MTE de un menisco grado III

- a) Sección longitudinal: severa disrupción de la arquitectura (2p), edema intrafibrilar (1p), pérdida de disposición en banda (1p).
 b) Sección transversal: baja densidad de empaquetamiento (2p) y alta variabilidad de tamaño de las fibras (1p).



MATERIAL Y MÉTODO

Trabajo nº 2

Gelber PE, Gonzalez G, Torres R, Garcia Giralt N, Caceres E, Monllau JC.

Cryopreservation does not alter the ultrastructure of the meniscus.

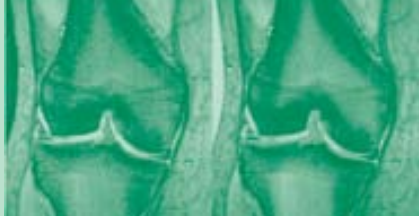
Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc 2009; 17 (6): 639-644.

De manera similar al estudio previo, se obtuvieron 10 meniscos externos durante la colocación de prótesis totales de rodilla, con una media de edad de los donantes de 74 años. Se dividió 1 cm² del cuerpo meniscal de cada espécimen en 4 secciones. Dos de ellas fueron sometidas al proceso de criopreservación mediante la introducción en dimetil sulfóxido (DMSO) a 4°C durante 30 minutos y enfriamiento lento a 1°C/min hasta -180°C en nitrógeno líquido posteriormente. A las 2 semanas se descongelaron dichas secciones: una de ellas se procesó para su estudio en el microscopio y la otra se incubó durante 48 horas en DMEM (medio de Dulbecco modificado) más suero fetal bovino para procesarla y evaluar la viabilidad celular. Las 2 secciones restantes se utilizaron como controles.

Las muestras para la cuantificación de la viabilidad celular fueron sometidas a un proceso secuencial de incubación, digestión enzimática, centrifugado y lavado, obteniéndose un conjunto de células que se colocaron en placas de cultivo y fueron contabilizadas al quinto día.

Se evaluó la arquitectura meniscal mediante el microscopio de transmisión de electrones, obteniendo fotografías a 19000 aumentos de las secciones más representativas de cada muestra. Se observaron y cuantificaron a doble ciego los cambios con la escala de arquitectura meniscal descrita previamente, así como el tamaño de las fibras de colágeno en sus secciones transversales y longitudinales. Se calcularon los coeficientes de correlación intraobservador e interobservador, realizando las mediciones 4 personas instruidas para ello en 2 ocasiones (separadas 30 días).

Después de comprobar la normalidad de las variables, el análisis estadístico se realizó mediante la t de Student para datos apareados utilizando el paquete estadístico SPSS 12 con una significación estadística de 0.05.



MATERIAL Y MÉTODO

Trabajo nº 3

Gonzalez-Lucena G, Gelber PE, Pelfort X, Tey M, Monllau JC.

Meniscal allograft transplantation without bone blocks: a 5- to 8-year follow-up of 33 patients.

Arthroscopy 2010; 26 (12): 1633-1640.

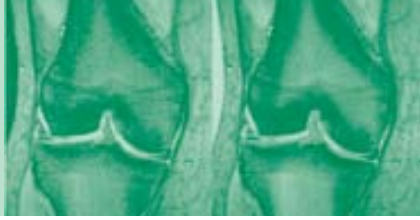
Este trabajo lo constituyen 33 trasplantes meniscales realizados entre enero de 2001 y octubre de 2003 por el cirujano sénior de nuestro equipo. La característica común de estos casos reside en el tipo de fijación del injerto, que se llevó a cabo a través de suturas, sin fijación ósea.

Los criterios de inclusión fueron: pacientes con dolor persistente a nivel del compartimento meniscectomizado, sin enfermedad degenerativa articular avanzada, con una rodilla estable y una extremidad normoalineada (entre 5° de varo y 7° de valgo).

Una inestabilidad debida a la lesión del ligamento cruzado anterior (LCA) o una desaxación de la extremidad no fueron consideradas contraindicaciones absolutas si el ligamento o la osteotomía correctora se realizaban en el mismo acto quirúrgico.

La serie la componían 24 hombres y 9 mujeres, con una edad media de 38.8 años (21-54). Se realizaron 19 trasplantes externos y 14 internos. Trece de los 33 pacientes (39%) precisaron de procedimientos adicionales tales como reconstrucción del LCA, microfracturas o regularización condral. El seguimiento clínico fue de 78 meses (6.5 años), siendo el seguimiento mínimo de 5 años.

Los injertos meniscales utilizados fueron meniscos congelados a -80°C facilitados por bancos de tejidos locales. Las mediciones del injerto utilizado se realizaron acordes con las dimensiones morfométricas del receptor (peso y talla) así como con las medidas radiológicas de la rodilla del donante y del receptor según el método descrito por Pollard.



MATERIAL Y MÉTODO

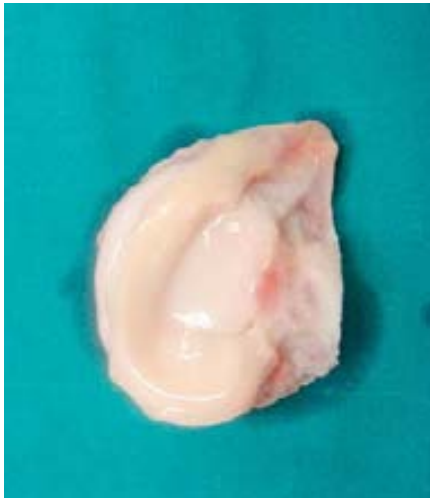


Fig 15. Injerto interno con su platillo tibial correspondiente, una vez descongelados

La técnica quirúrgica fue completamente artroscópica, realizándose 2 túneles tibiales de 6mm de diámetro en la localización de las inserciones meniscales. Se realiza una sutura con configuración de Krackow (54) mediante hilos de alta resistencia FiberWire® (Arthrex, Naples, FL-USA) en el extremo de ambas astas meniscales, traccionando de la posterior para la introducción del injerto en la articulación. Una vez suturado el injerto a la pared meniscal mediante suturas dentro-fuera, las suturas de las astas anterior y posterior se anudan en la cortical tibial anterior.

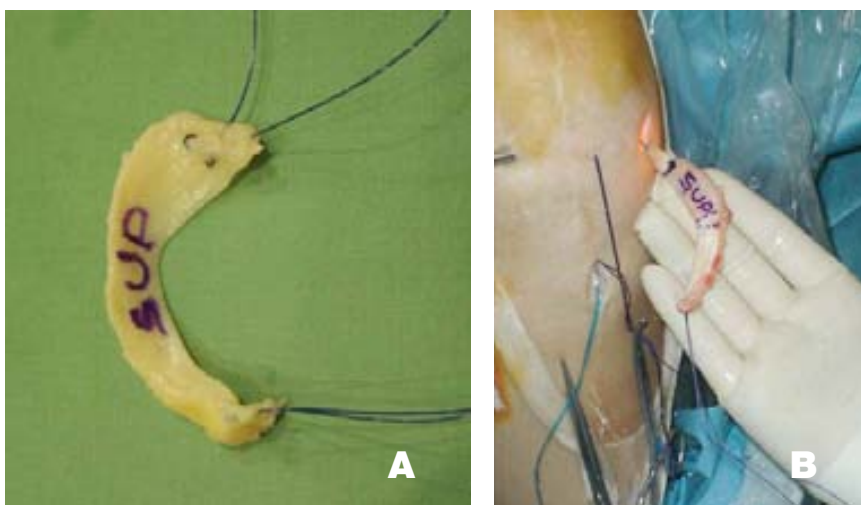
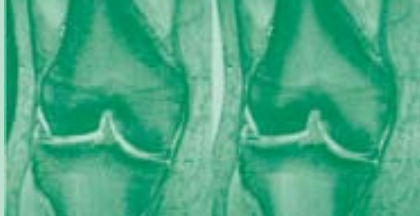


Fig 16. Diferentes momentos de la técnica quirúrgica:

A) Injerto meniscal tras pasar las suturas a nivel de las astas.

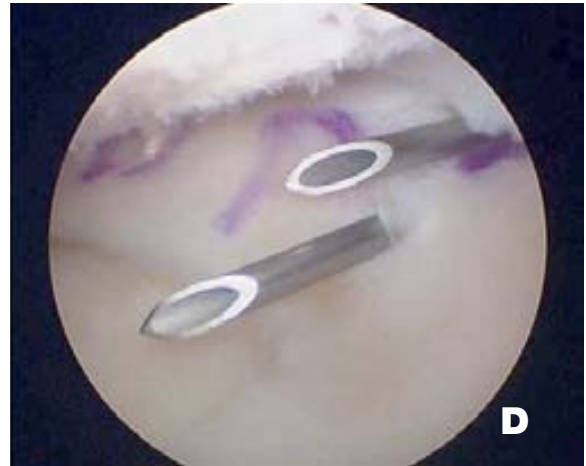
B) Introducción del injerto en la articulación mediante tracción de la sutura posterior.



MATERIAL Y MÉTODO



C



D

C) Tracción de la sutura del asta posterior.

D) Sutura fuera-dentro a nivel del cuerpo meniscal mediante agujas espinales.



E



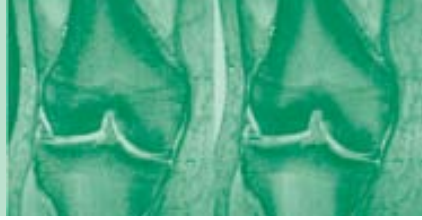
F

E-F) Aspecto final del trasplante meniscal

Los procedimientos asociados realizados incluyeron el tratamiento de lesiones condrales y la reconstrucción del LCA, ésta siempre como paso final de la cirugía.

Protocolo postoperatorio

Se inició de forma inmediata la movilización pasiva de la rodilla de 0 a 60°, así como ejercicios de cuádriceps e isquiotibiales. El rango de flexión fue aumentándose hasta los 90° al final del primer mes. La carga parcial progresiva se autorizó a las 3 semanas, alcanzando la carga completa a las 6 semanas. Los pacientes volvieron a sus actividades laborales sobre los 4 meses, permitiéndose la carrera a partir del sexto mes, dependiendo de los síntomas.



MATERIAL Y MÉTODO

Evaluación funcional y radiológica

La evaluación funcional incluyó la escala funcional de 100 puntos de Lysholm (apéndice 1), la escala para actividades deportivas de Tegner (apéndice 2), la escala visual analógica (EVA) para dolor y una escala subjetiva de satisfacción del paciente (de 0 a 4 puntos según el grado de satisfacción).

La puntuación en la escala de Lysholm fue interpretada como excelente si era superior a 94, buena de 84 a 94 puntos, regular de 65 a 83 puntos y pobre por debajo de 65 puntos.

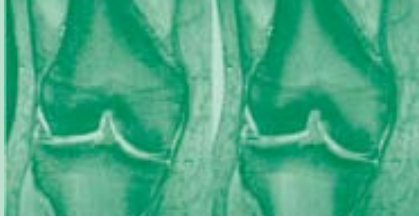
La valoración radiológica se componía de telemetrías en carga, perfil de rodilla y proyección antero-posterior a 45° de flexión en carga. En esta última, también llamada proyección de Rosenberg, se realizó la medición de la interlínea articular como la menor distancia entre el cóndilo femoral y el platillo tibial del compartimento afecto.

Se obtuvo también una evaluación mediante resonancia magnética nuclear (RMN) a los 5 años para valorar la evolución del injerto así como su posible extrusión en los cortes coronales. La extrusión se definió como la mayor distancia entre el margen periférico del injerto hasta el margen lateral de la tibia, dividido por la amplitud del menisco en la misma imagen de RMN, obteniéndose datos porcentuales para intentar estandarizar el grado de extrusión de las diferentes rodillas.

Las medidas descritas se recogieron pre y postoperatoriamente mediante el sistema visor ePACS (versión 5.0.0.0; Real Time Image, San Bruno, CA), comparándose posteriormente. A la vez se realizó un subanálisis comparando los injertos externos con los internos.

Análisis estadístico

Tras comprobar la normalidad de los datos pre y postoperatorios, se analizaron las diferencias mediante la t de Student para datos apareados. Se utilizó el paquete SPSS 13, estableciéndose la significación estadística en 0.05.



RESULTADOS

Trabajo nº 1

Gelber PE, Gonzalez G, Lloreta JL, Reina F, Caceres E, Monllau JC.

Freezing causes changes in the meniscus collagen net: a new ultrastructural meniscus disarray scale.

Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc 2008; 16 (4): 353-359.

Tamaño de las fibras de colágeno

El diámetro de las fibras de colágeno de los meniscos previamente congelados mostró una media en la sección longitudinal de $14.26 \pm 2.59\text{nm}$ mientras que los meniscos controles presentaban una media de $17.28 \pm 3.46\text{nm}$ ($p=0.019$). Así mismo, en la sección transversal las fibras de los meniscos congelados parecían más pequeñas con un diámetro de $13.14 \pm 2.99\text{nm}$ frente a los $16.93 \pm 2.9\text{nm}$ de los controles ($p=0.003$).

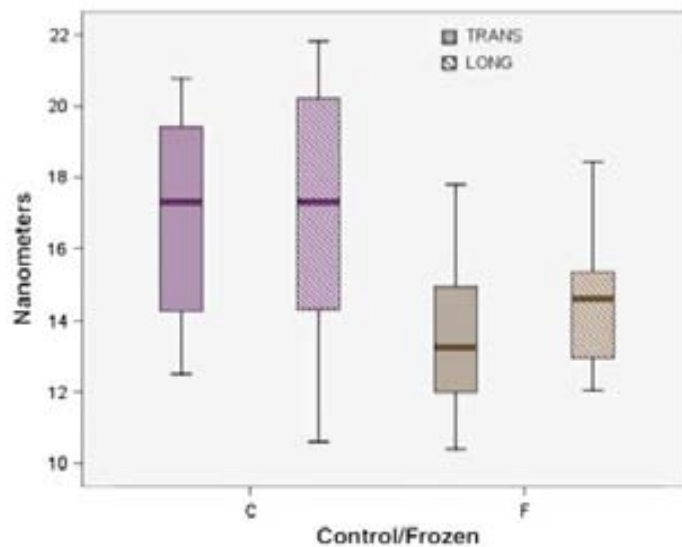
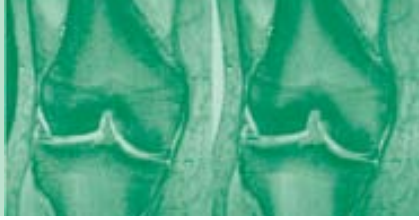


Fig 17. Diámetro medio en nanómetros en ambas secciones, longitudinal y transversal, comparando el grupo control vs congelados. TRANS transversal, LONG longitudinal.



RESULTADOS

Arquitectura meniscal

Existía una clara diferencia entre ambos grupos. Ocho de los 13 meniscos congelados (61.54%) fueron clasificados como grado III en la escala de arquitectura del colágeno meniscal en función del grado de desorden de su ultraestructura. El resto de meniscos congelados fueron clasificados como grado II. El grupo control mostró una arquitectura normal o con bajo grado de desorden estructural, siendo clasificados como grado I en 6 casos y como grado II en los otros 7 casos. Cuando se aplicaba la valoración por puntos de la escala, el grupo de meniscos congelados puntuaba 4.85 puntos mientras que el grupo control obtenía una puntuación media de 2.46 puntos ($p < 0.001$).

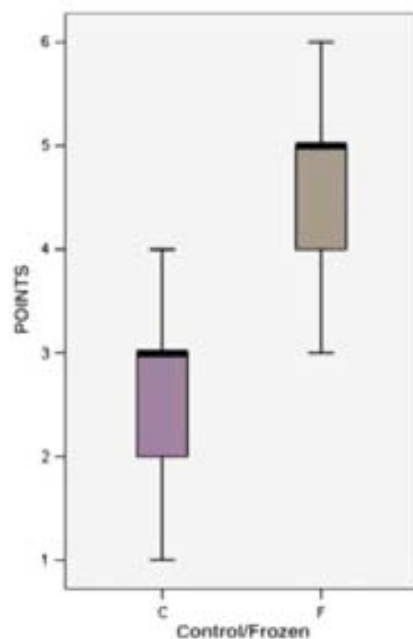


Fig 18. Puntuaciones medias de la escala de arquitectura meniscal. Comparación entre el grupo control y el grupo congelado.

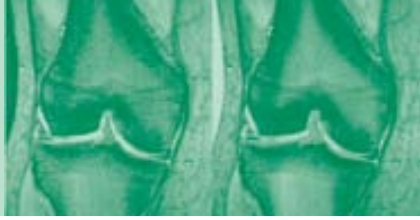


RESULTADOS

| Nº | Grupo | Edad | Sexo | Lado | Trans | Long | Grado | Puntos |
|----|-------|------|------|------|--------|--------|-------|--------|
| 1 | C | 70 | H | I | 15,385 | 13,807 | 2 | 3 |
| 2 | C | 60 | M | D | 14,281 | 10,599 | 1 | 2 |
| 3 | C | 77 | M | I | 13,155 | 17,305 | 2 | 4 |
| 4 | C | 59 | M | D | 20,777 | 21,829 | 2 | 3 |
| 5 | C | 73 | H | I | 12,519 | 14,323 | 2 | 4 |
| 6 | C | 68 | M | D | 17,300 | 20,214 | 2 | 3 |
| 7 | C | 71 | M | I | 19,409 | 21,576 | 1 | 1 |
| 8 | C | 80 | H | D | 19,367 | 16,411 | 1 | 2 |
| 9 | C | 71 | M | I | 14,128 | 16,469 | 1 | 2 |
| 10 | C | 69 | M | D | 19,625 | 17,831 | 2 | 3 |
| 11 | C | 83 | H | D | 20,256 | 18,620 | 1 | 1 |
| 12 | C | 74 | H | I | 15,407 | 14,176 | 2 | 3 |
| 13 | C | 73 | M | I | 18,552 | 21,476 | 1 | 1 |
| 14 | F | 84 | M | I | 10,599 | 12,056 | 3 | 6 |
| 15 | F | 79 | M | I | 6,548 | 8,232 | 3 | 7 |
| 16 | F | 65 | H | I | 13,255 | 12,966 | 2 | 3 |
| 17 | F | 74 | H | I | 11,993 | 14,623 | 3 | 5 |
| 18 | F | 72 | M | D | 12,082 | 14,512 | 2 | 4 |
| 19 | F | 79 | M | I | 17,791 | 18,421 | 2 | 4 |
| 20 | F | 82 | M | I | 14,481 | 14,907 | 3 | 5 |
| 21 | F | 82 | H | I | 12,145 | 12,051 | 3 | 5 |
| 22 | F | 75 | H | D | 10,401 | 16,378 | 3 | 5 |
| 23 | F | 84 | H | I | 14,226 | 17,006 | 3 | 6 |
| 24 | F | 65 | H | D | 16,264 | 15,287 | 2 | 3 |
| 25 | F | 66 | M | I | 16,139 | 13,549 | 3 | 5 |
| 26 | F | 77 | M | I | 14,965 | 15,342 | 2 | 5 |

Tabla 2. Tabla de datos.

C control, F congelados, I izquierda, D derecha, Trans diámetro en nm en sección transversal, Long diámetro en nm en sección longitudinal.



RESULTADOS

Trabajo nº 2

Gelber PE, Gonzalez G, Torres R, Garcia Giralt N, Caceres E, Monllau JC.

Cryopreservation does not alter the ultrastructure of the meniscus.

Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc 2009; 17 (6): 639-644.

Tamaño de las fibras de colágeno

Las fibras de colágeno de los meniscos criopreservados mostraron un diámetro medio en las secciones longitudinales de $12.6 \pm 1.3\text{nm}$, mientras que en los meniscos controles fue de $13.4 \pm 2.2\text{nm}$. En las secciones transversales los meniscos criopreservados y los controles promediaron $15.5 \pm 2.4\text{nm}$ y $16.7 \pm 3.5\text{nm}$, respectivamente. No se hallaron diferencias significativas.

Arquitectura meniscal

Aplicando la escala de arquitectura meniscal no se hallaron diferencias claras entre ambos grupos. 5 de los 10 meniscos criopreservados se clasificaron como grado III, 4 como grado II y el restante como grado I. En el grupo control, 5 de los 10 meniscos también fueron clasificados como grado III. Tres controles fueron clasificados como grado II y otros dos como grado I.

De forma similar, la puntuación numérica de la escala no mostró tampoco diferencias entre los dos grupos. Los meniscos criopreservados obtuvieron 4.8 puntos mientras que la puntuación de los controles fue de 4.1.

La correlación intraclase fue calificada como excelente con un coeficiente kappa de 0.912 (95% IC 0.795-0.964). Por otra parte, la correlación interclase entre observadores fue considerada sólo como moderada, con un coeficiente kappa de 0.51 (95% IC 0.25-0.73).

Viabilidad celular

La viabilidad de las células supervivientes fue del 23%, observándose un amplio rango de supervivencia celular, del 4 al 54%.

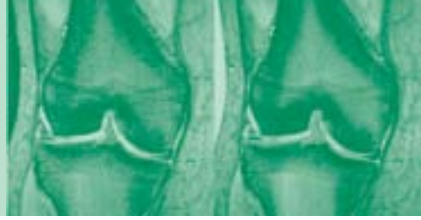


RESULTADOS

| Nº | Grupo | Edad | Trans | Long | Grado | Puntos | Céls/g | % Céls |
|----|-------|------|-------|------|-------|--------|-----------|--------|
| 1 | F | 66 | 15.4 | 13.8 | 3 | 5 | 1,050,000 | |
| 2 | F | 82 | 14.3 | 10.6 | 3 | 5 | 628,930 | |
| 3 | F | 70 | 13.2 | 17.3 | 3 | 6 | 66,666 | |
| 4 | F | 78 | 20.8 | 21.8 | 3 | 5 | 264,705 | |
| 5 | F | 78 | 12.5 | 14.3 | 1 | 2 | 70,000 | |
| 6 | F | 78 | 17.3 | 20.2 | 3 | 5 | 31,250 | |
| 7 | F | 76 | 19.4 | 21.6 | 2 | 4 | 292,857 | |
| 8 | F | 73 | 19.4 | 16.4 | 1 | 1 | 25,000 | |
| 9 | F | 69 | 14.1 | 16.7 | 2 | 3 | 111,111 | |
| 10 | F | 67 | 19.6 | 17.8 | 2 | 4 | 100,000 | |
| 1 | C | | 10.6 | 12.1 | 2 | 5 | 250,000 | 23.8 |
| 2 | C | | 6.5 | 8.2 | 2 | 5 | 117,647 | 18.7 |
| 3 | C | | 13.3 | 12.9 | 3 | 6 | 16,666 | 24.9 |
| 4 | C | | 11.9 | 14.6 | 2 | 4 | 70,000 | 26.4 |
| 5 | C | | 12.1 | 14.5 | 3 | 5 | 37,500 | 53.5 |
| 6 | C | | 17.8 | 18.4 | 3 | 5 | 13,846 | 44.3 |
| 7 | C | | 14.5 | 14.9 | 3 | 5 | 45,882 | 15.7 |
| 8 | C | | 12.1 | 12.1 | 1 | 2 | 1,136 | 4.5 |
| 9 | C | | 10.4 | 16.4 | 2 | 4 | 4,444 | 3.9 |
| 10 | C | | 14.2 | 17.0 | 3 | 7 | 15,384 | 15.4 |

Tabla 3. Datos de las muestras

F frescos/controles, *C* criopreservados, *Trans* diámetro medio en nm en sección transversal, *Long* diámetro medio en nm en sección longitudinal, *Céls/g* células por gramo, *% Céls* porcentaje de supervivencia celular.



RESULTADOS

Trabajo nº 3

Gonzalez-Lucena G, Gelber PE, Pelfort X, Tey M, Monllau JC.

Meniscal allograft transplantation without bone blocks: a 5- to 8-year follow-up of 33 patients.

Arthroscopy 2010; 26 (12): 1633-1640.

Funcionales

La escala de Lysholm mejoró de 65.4 ± 11.6 a 88.6 ± 7 después del procedimiento ($p < 0.001$). La puntuación de Lysholm fue excelente en 9 pacientes (28.1%), buena en 13 (40.6%) y regular en 10 (31.2%). Así, el 68.7% de los pacientes obtuvieron buenos o excelentes resultados.

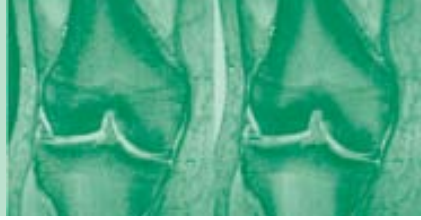
El Tegner medio aumentó de 3.1 en el preoperatorio a 5.5 en el postoperatorio. ($p < 0.001$).

En la escala EVA para el dolor se pasó de una media de 6.4 ± 2 en el preoperatorio a 1.5 ± 1.2 durante el seguimiento ($p < 0.001$).

No se hallaron diferencias en cuanto a las escalas de Lysholm, Tegner o EVA cuando se realizó el análisis entre compartimentos interno y externo.

El Lysholm final en el subgrupo sometido a reconstrucción del LCA fue de 86.6 y de 90 en el subgrupo de microfracturas, siendo el Lysholm final de la serie de 88.6, por lo que no se hallaron diferencias entre subgrupos en cuanto a procedimientos asociados. ($p > 0.05$).

La satisfacción de los pacientes con respecto al procedimiento promedió 3.6 puntos sobre un máximo de 4.



RESULTADOS

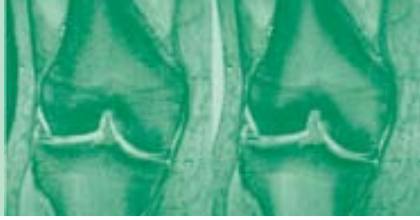
| | Total | Internos | Externos | p |
|--------------|-------------|-------------|------------|-------|
| Lysholm | 88.63 ± 7.2 | 88.37 ± 7.5 | 89 ± 9.2 | 0.64 |
| Tegner | 5.54 ± 2.15 | 5 ± 1.53 | 6 ± 2 | >0.99 |
| EVA | 1.52 ± 1.21 | 1.37 ± 1.5 | 1.83 ± 1.3 | 0.47 |
| Satisfacción | 3.6 | 3.5 | 3.75 | |

Tabla 4 – Resultados funcionales comparando trasplantes interno y externo.

Radiológicos

La valoración mediante la proyección de Rosenberg no mostró disminución de la interlínea, obteniéndose una media de 3.19 ± 1.23 mm en el preoperatorio y de 3.21 ± 1.96 mm en el seguimiento ($p=0.38$).

En las imágenes de RMN de los trasplantes se observó una alteración de señal, probablemente indicativa de remodelación y cierto grado de degeneración o ambos. Se detectó algún grado de extrusión del injerto en todos los casos, con una extrusión media para toda la serie de $36.3 \pm 13.7\%$ del tamaño total del menisco. Analizada por compartimentos, la extrusión fue del $35.9 \pm 18.1\%$ para los injertos internos y de $38.3 \pm 14.4\%$ para los externos, sin hallarse diferencias significativas.



RESULTADOS



Fig 19. Proyección Rosenberg de control de un trasplante de menisco interno en una rodilla izquierda

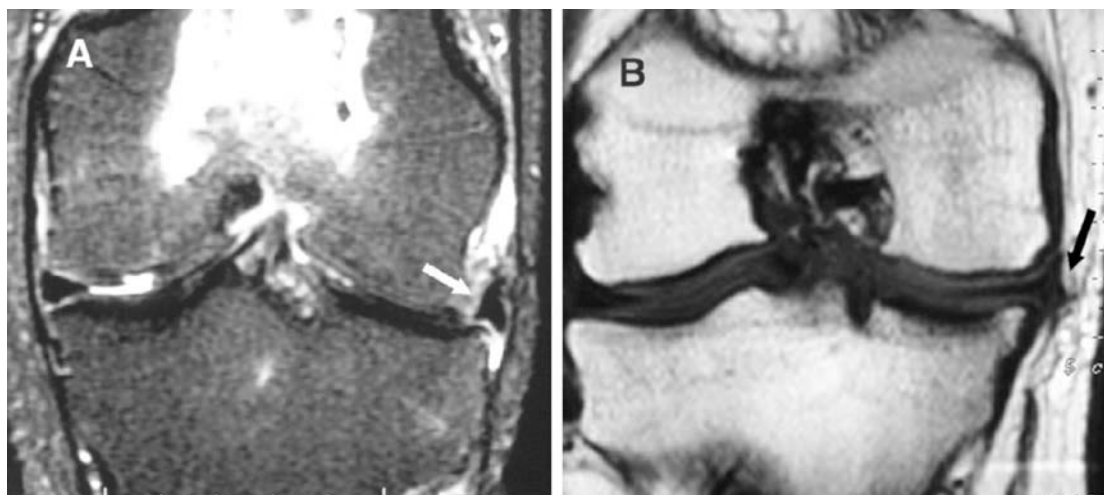
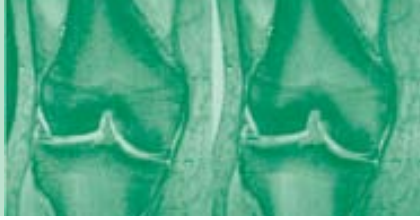


Fig 20. Cortes coronales de RMN de 2 rodillas tras trasplante meniscal: A) externo y B) interno.
 A) Extrusión completa del aloinjerto externo (flecha blanca)
 B) Extrusión parcial del aloinjerto interno tras el ligamento colateral medial (flecha negra)



RESULTADOS

Complicaciones

Las complicaciones incluyeron 2 casos de artrofibrosis y 2 artritis sépticas que precisaron de artrolisis artroscópica y lavado articular más antibioterapia durante 6 semanas, respectivamente. En los 4 casos el menisco trasplantado aparecía con aspecto viable y permanecía intacto en su lecho.

En 7 pacientes (21.4%) se precisó una segunda cirugía por lesión del injerto. Cuatro de ellos presentaban una pérdida de fijación posterior que hizo necesaria su refijación. El aloinjerto tuvo que ser extirpado en los 3 casos restantes (tasa de fracaso 9%).

Así, un total de 14 rodillas fueron sometidas a una artroscopia de revisión en diferentes momentos del seguimiento, pero sólo 11 de ellas (33% de la serie) se debieron a complicaciones del aloinjerto. En 11 de las 14 revisiones los aloinjertos aparecían parcial o totalmente integrados tanto a nivel de las astas como de la sinovial articular. Dos casos mostraron una importante retracción del aloinjerto, siendo uno de ellos completamente asintomático.

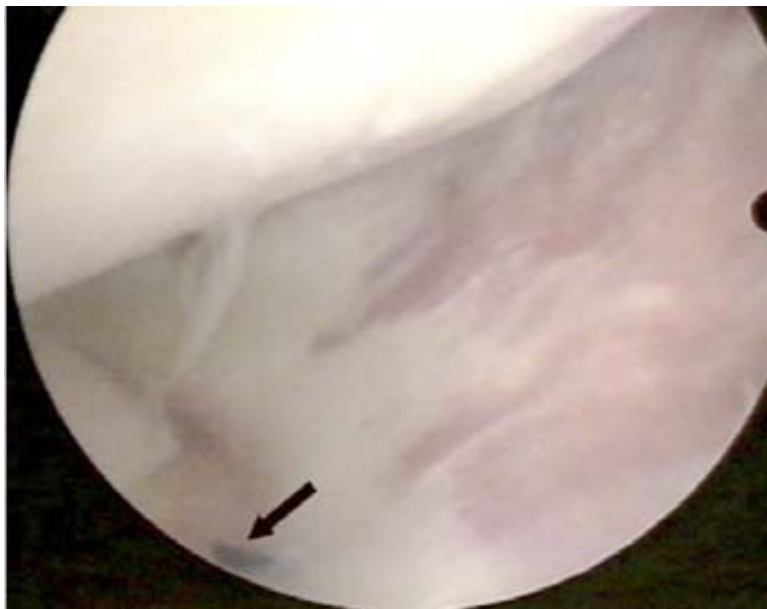
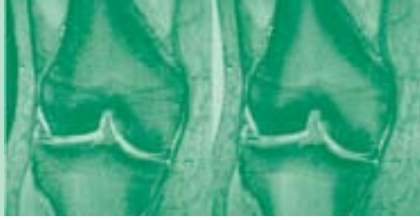


Fig 21. Artroscopia de revisión en un paciente con artritis séptica después del TMA. Existe una sutura rota en el asta anterior (flecha). El aloinjerto se hallaba totalmente integrado a la periferia por tejido vascularizado.



DISCUSIÓN

La discusión se ha agrupado en dos bloques, el primero donde se discute sobre la conservación de los injertos meniscales y el segundo donde se tratan los resultados del trasplante meniscal.

Freezing causes changes in the meniscus collagen net: a new ultrastructural meniscus disarray scale.

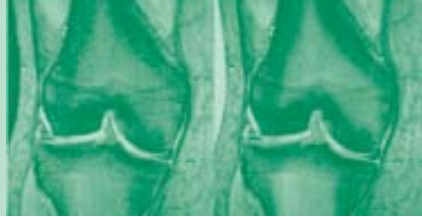
Cryopreservation does not alter the ultrastructure of the meniscus.

Existe escasa evidencia en la literatura sobre la superioridad de alguno de los métodos de preservación meniscal sobre el resto de procedimientos, exceptuando los pobres resultados asociados a la liofilización, principalmente en relación con la retracción del tejido meniscal. De hecho, la mayoría de trabajos con seguimiento a largo plazo publicados y que obtienen buenos resultados clínicos utilizan diferentes métodos de preservación.

Se han observado alteraciones en la estructura de la red colágena meniscal bajo diferentes condicionantes tales como la inmovilización prolongada, la criopreservación, la congelación en nitrógeno líquido y la liofilización. Las propiedades biomecánicas del menisco dependen de su particular organización del colágeno; así, el método de preservación ideal sería aquel que no alterase esa arquitectura tan bien organizada.

En pocos trabajos se analizan los efectos mecánicos de las diferentes técnicas de preservación sobre los tejidos blandos. En uno de ellos, Lewis (55) recientemente demostró que los meniscos sometidos a un solo ciclo de congelación-descongelación poseían un mayor módulo de Young que los que eran sometidos a dicho procedimiento en múltiples ocasiones, concluyendo que éste hecho podría comprometer la resistencia del injerto a la compresión. Sin embargo, los autores no proporcionan una explicación para los cambios de resistencia que se basen en hallazgos histológicos o bioquímicos.

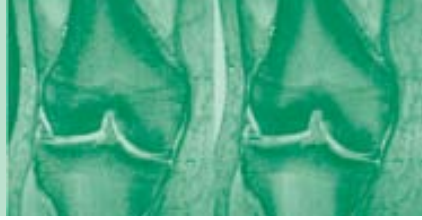
La mayoría de estudios sobre métodos de preservación hasta el momento han evaluado principalmente la viabilidad celular de los injertos, sin que exista ninguno de ellos centrado en los efectos aislados de la congelación a -80°C sobre la red de colágeno meniscal.



DISCUSIÓN

La retracción del injerto es una de las complicaciones más frecuentes después de un trasplante meniscal. Aunque aún no se encuentra totalmente demostrado que el trasplante meniscal prevenga la degeneración articular, recientes trabajos experimentales realizados en modelos ovinos han mostrado cierto efecto condroprotector del cartílago articular(6,56). Así, aunque los cambios tanto clínicos como anatómico-patológicos que se producen en un menisco retraído no están claramente definidos (57), parece lógico pensar que su efecto protector pueda verse disminuido al hacerlo su tamaño (47). Entre las causas apuntadas en la literatura de retracción meniscal, sólo la liofilización ha demostrado una clara relación con este fenómeno (21). Otra posible causa es una reacción inmune sutil en el injerto trasplantado (49,51). La presencia de antígenos HLA II y ABO procedentes de las células sinoviales y endoteliales en el tejido meniscal en el momento del trasplante así como la expresión de receptores de HLA tipo I y II en los injertos criopreservados apoyan esta teoría. Pese a ello, no hay noticia de una reacción inmune con evidencia clínica en la literatura. Un déficit nutricional meniscal podría ser también una causa de retracción. Debido a que el menisco es una estructura poco vascular y su nutrición se produce mediante la difusión de solutos desde la periferia a través del espacio interfibrilar, cualquier proceso que altere la estructura de la red colágena podría comportar un déficit de nutrientes del tejido meniscal. Ochi (58) estudió el efecto de la inmovilización de la rodilla sobre la red colágena en un modelo animal, sugiriendo que el aumento del espacio interfibrilar conducía a la disminución de difusión de solutos. Ese aumento del espacio entre fibras de colágeno ha sido observado también en nuestro primer trabajo. Arnoczky (59) analizó los injertos meniscales congelados a -80°C trasplantados en un modelo canino. Estos meniscos mostraban menor celularidad en la substancia central, poniendo de manifiesto un déficit nutricional de la capa más interna de fibrocartilago. En el primer trabajo se han observado los mismos hallazgos apuntando hacia una posible causa de retracción meniscal.

La congelación a -80°C es uno de los métodos más utilizados en los países europeos para la preservación de injertos, por su sencillez y su bajo coste económico. La principal diferencia entre los tejidos congelados y los criopreservados es que estos últimos son capaces de conservar células viables gracias a la utilización de un agente anticongelante. Algunos trabajos han comparado en modelos animales la congelación con la criopreservación,

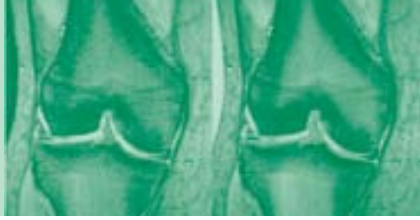


DISCUSIÓN

analizando los injertos mediante microscopía de luz polarizada (34) o MTE (60). Sus autores afirman que pese a que la congelación destruye la celularidad, la red colágena se mantiene intacta. No existen, pese a ello, estudios ultraestructurales que analicen el efecto de dichos métodos de preservación sobre la red colágena. Los hallazgos ultraestructurales observados en nuestro primer trabajo se encuentran claramente en contraposición con los conocimientos aceptados hasta el momento en cuanto al método de congelación.

En términos biomecánicos, la criopreservación parece no alterar la microarquitectura o las propiedades meniscales (33). Estos hallazgos coinciden con los obtenidos en nuestro segundo estudio. La tasa de supervivencia celular descrita en la literatura tras la criopreservación va del 10 al 30% (61). En nuestro segundo trabajo observamos un amplio rango de supervivencia celular, del 4 al 54%. Pero dado que se ha demostrado ampliamente que poco tiempo después del trasplante el injerto sólo posee ADN del receptor, la ventaja de la preservación celular parece ser una cuestión secundaria.

Así pues, la preservación de la estructura de la red colágena meniscal podría ser la principal ventaja de la criopreservación sobre la congelación.



DISCUSIÓN

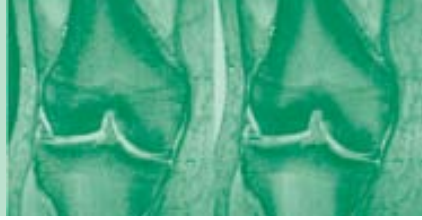
Meniscal allograft transplantation without bone blocks: a 5- to 8-year follow-up of 33 patients.

El principal hallazgo en nuestro estudio fue que el TMA realizado en pacientes con dolor persistente en el compartimento meniscectomizado mejoraba la funcionalidad de la rodilla y disminuía el dolor, al menos a 5 años de seguimiento.

En esta serie se realizó la fijación del aloinjerto únicamente mediante suturas. Posteriormente se ha visto que la técnica quirúrgica condiciona la biomecánica del trasplante meniscal. En un estudio con rodillas humanas cadavéricas congeladas, Alhalki et al (62) demostraron que la utilización exclusiva de suturas no restablecía la biomecánica de contacto tibial, concluyendo que el TMA interno precisa de una fijación anatómica con bloques óseos a nivel de las astas anterior y posterior para reproducir de forma más exacta la mecánica meniscal. Otros autores muestran resultados similares (63,64). Los injertos fijados mediante suturas han demostrado en estudios experimentales una buena integración a la periferia (47,65) y la misma resistencia a la tracción que aquéllos con fijación ósea (66), y por otra parte, una fijación ósea no anatómica puede llevar a un mayor deterioro articular (67). Lo que si parece claro es que ambas técnicas de fijación conllevan una disminución en las presiones de contacto en el compartimento trasplantado (68). Pese a todo, hay que tener presente que estos estudios se realizan sobre especímenes cadavéricos y que no existe información sobre lo que sucede con la fijación tras el proceso de remodelación.

A nivel clínico, también existen estudios clínicos con fijación sin bloques óseos que muestran resultados satisfactorios (4,21,35,69), pero hasta el momento sigue sin existir ningún trabajo comparativo que determine que método de fijación es superior.

El hecho de no utilizar bloques óseos supone una menor dificultad técnica, un menor estímulo inmunológico y una mayor capacidad de adaptación del injerto al compartimento en el caso que no exista una correlación exacta entre el tamaño de ambas estructuras, mediante la introducción de parte de las astas meniscales en los túneles óseos. Actualmente los trasplantes en



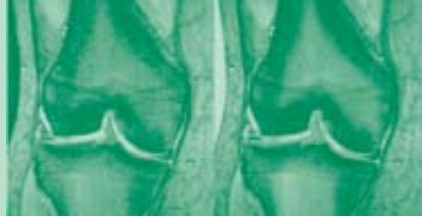
DISCUSIÓN

nuestro equipo se realizan con fijación ósea, después de sospechar la probable relación entre la fijación mediante suturas con el fracaso mecánico de alguno de los injertos, sobretodo a nivel del asta posterior, y con cierto grado de extrusión meniscal.

Hemos utilizado aloinjertos congelados a -80°C ya que se trata de la técnica de preservación a nuestro alcance (dada su simplicidad y bajo coste) y la más utilizada en los países europeos. La congelación nos procura la disminución de la inmunogenicidad (ya que destruye la celularidad), pero como hemos constatado anteriormente en el primero de nuestros trabajos, también altera la ultraestructura meniscal afectando al tamaño, homogeneidad y disposición de las fibras de colágeno en contraposición a lo establecido hasta el momento. Estos cambios estructurales pueden afectar a las funciones del injerto e incluso llevar a la retracción ("shrinkage") del tejido meniscal.

La retracción del aloinjerto es una complicación difícil de determinar, incluso mediante una artroscopia de revisión, debido a las inconsistencias a la hora de estimar el tamaño del injerto de forma visual. En nuestro caso se detectaron 2 casos de los 33 injertos (6% de la serie). Uno de ellos se trataba de un caso de lesión del aloinjerto pero el otro permanecía asintomático y se descubrió durante una revisión por otro motivo. Carter et al (2) revisaron artroscópicamente 22 casos de TMA, hallando únicamente 3 casos de retracción meniscal. Milachowski et al (1) describen una reducción de tamaño del 33-66% en 14 de los 23 meniscos examinados artroscópicamente a los 8 meses de la cirugía. Ambos autores habían utilizado meniscos liofilizados. Aunque la retracción se ha descrito clásicamente asociada a la liofilización de los injertos, hemos visto que la congelación podría también contribuir a la pérdida de tamaño de los injertos, como en nuestra serie.

La media de edad de esta serie es de 38.8 años. Aunque algunos autores han estudiado poblaciones de mayor edad a la recomendada para este procedimiento, la mayoría de series constan de pacientes menores de 50 años. Ningún trabajo analiza la edad como factor potencial sobre los resultados del TMA y autores como Stone (23) muestran series de mayor edad con resultados similares a los estudios con pacientes más jóvenes. Así pues, no existen conclusiones basadas en la literatura que definan una edad ideal para el trasplante meniscal.



DISCUSIÓN

En cuanto a los resultados funcionales de nuestra serie, hallamos una mejoría tanto en la escala de Lysholm como en la de Tegner y una disminución del dolor, reflejada mediante la escala EVA. Estos resultados coinciden con los de la literatura, donde la mayoría de investigadores describen como beneficios del procedimiento tanto la mejora del dolor como del nivel funcional, al menos durante los primeros años de seguimiento (22,69-73).

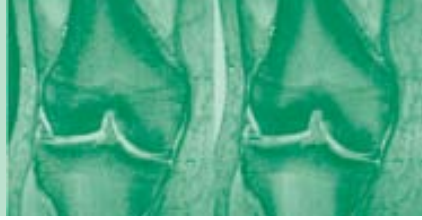
Matava, en una revisión de 15 estudios clínicos, apunta a que más del 60% de los pacientes obtienen buenos o excelentes resultados, situándose en el 88% si se analizan las series más recientes (74). Las posibles causas de esa mejora incluirían criterios de selección más estrictos, mejorías en las técnicas de preservación de los injertos así como de la técnica quirúrgica (75).

Una reciente revisión de 14 series (76) expone que del 68 al 89% de los pacientes vuelven a un nivel de actividad normal o casi normal, y aunque más del 60% vuelven a realizar algún tipo de actividad deportiva, deben restringirse las actividades de alto impacto, con pivotaje y cambios de ritmo debido a la alta tasa de lesión del injerto.

La tasa de fracaso del TMA oscila en la literatura del 0 al 37.5%, teniendo una tasa del 10% aproximadamente de fracasos precoces (en los primeros 2 años) (74). En nuestra serie la tasa de fracasos es del 9%, alcanzando los injertos una tasa de supervivencia del 87.8% a los 6.5 años según los criterios de Van Arkel y De Boer (70), que consideran además de la retención del injerto, la correcta funcionalidad de la rodilla.

No hallamos cambios en la interlínea articular tras el procedimiento. De hecho, los resultados mostrarían un ligero ensanchamiento de la interlínea (0.02mm) no significativo. En la misma línea, Garrett (77) no encontró degeneración progresiva del compartimento tras 60 meses de seguimiento en 15 injertos criopreservados. Rath et al (78), Van Arkel y De Boer (7), y Yoldas et al (79) muestran resultados similares. Por el contrario, Stollsteimer et al (80) describen una disminución de la interlínea articular de 0.88mm en su serie.

Aunque no se ha demostrado una correlación clínico-radiológica, es cierto que los resultados tanto funcionales como radiológicos se deterioran con el tiempo, manteniéndose superiores a los previos al procedimiento, sin llegar a determinarse el efecto a largo plazo de estos injertos sobre la degeneración articular.



DISCUSIÓN

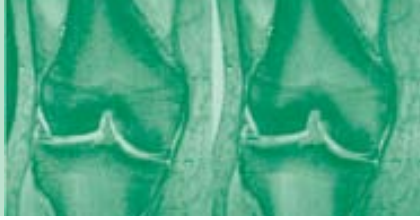
La extrusión meniscal se trata de un fenómeno conocido dentro de la historia natural de la degeneración artrósica de la rodilla y se ha descrito en rodillas normales. Pese a ello, pocos autores aportan datos de extrusión en sus series clínicas. Verdonk et al (71) compararon la extrusión de injertos meniscales con meniscos normales mediante RMN y ecografía, hallando mayor grado de extrusión en los meniscos trasplantados. Recientemente algunos autores han demostrado que la extrusión no aumenta tras el primer año y que parece no tener traducción clínica tras 5 años de seguimiento (81,82). En nuestra serie todos los aloinjertos mostraban cierto grado de extrusión, con una media del 36.3% del tamaño global del menisco. Aún sin haber hallado correlación clínica en nuestros trasplantes, este alto porcentaje de extrusión podría relacionarse con el tipo de fijación utilizado.

En concordancia con la literatura, no hallamos diferencias funcionales ni radiológicas entre trasplantes de compartimento interno y externo ni tampoco al realizar el análisis por subgrupos en cuanto a los procedimientos asociados realizados junto al TMA.

La lesión del aloinjerto es la complicación más frecuentemente descrita en relación con el TMA. Matava en su revisión de 15 series clínicas halla una tasa de lesión del 8.2% con una tasa de reintervención que oscila desde el 0 al 26% (74). Nuestra serie muestra una tasa de lesión del injerto del 21.4%. Estos 7 injertos precisaron de reparación en 4 casos y extracción del TMA en los 3 restantes. La tasa de complicaciones presenta un rango de gran variabilidad en la literatura. Así, si consideramos otras complicaciones, tales como la pérdida de movilidad, la tasa oscila del 0 al 11%. En el caso de las infecciones, algunas series alcanzan un 4.5% mientras que en otras no se facilitan estos datos (74). Globalmente, la tasa de complicaciones de nuestra serie puede considerarse alta (33%). En ella se incluyeron las lesiones del injerto así como aquellas otras causas que obligaron a una reintervención.

La cuestión de mayor importancia es si el TMA es capaz de preservar el cartílago en la rodilla. El trasplante meniscal intenta recrear las propiedades biomecánicas del menisco nativo para prevenir o enlentecer el proceso de degeneración articular inevitable tras la meniscectomía.

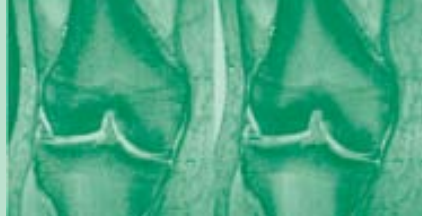
Las revisiones de series concluyen que pueden esperarse buenos resultados a corto y medio plazo de aloinjertos congelados o criopreservados no irradiados.



DISCUSIÓN

dos en pacientes jóvenes sin lesiones condrales severas (Outerbridge inferior a 3) y que posean una articulación estable y una extremidad normoalineada.

Pese al avance en el conocimiento sobre este procedimiento, persiste una falta de consenso en aspectos como la técnica de medición de los injertos, los métodos de fijación, los procedimientos de preservación, las indicaciones y las evidencias de eficacia a largo plazo. Así las cosas, a la pregunta: ¿el TMA enlentece o detiene la degeneración del cartílago en una rodilla menisectomizada?; la respuesta es: sin un estudio prospectivo y aleatorizado que compare el TMA en rodillas menisectomizadas con un grupo control seguiremos sin una respuesta basada en la evidencia para nuestros pacientes.

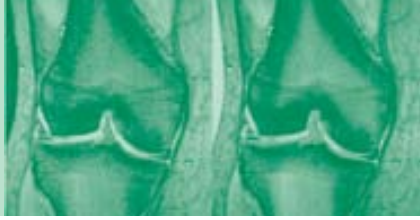


CONCLUSIONES

Freezing causes changes in the meniscus collagen net: a new ultrastructural meniscus disarray scale.

Las fibras de colágeno en los meniscos congelados presentan un menor diámetro y un mayor grado de desorden que los controles, sugiriendo que el proceso de congelación altera la red de colágeno meniscal en la mayoría de los casos y explicando así los cambios anatomo-patológicos hallados en los meniscos retraídos.

La escala cualitativa y cuantitativa diseñada para la valoración de la arquitectura meniscal es una herramienta útil para evaluar la ultraestructura meniscal y poder predecir el riesgo de retracción del tejido en función de la ultraestructura del injerto previamente al trasplante.

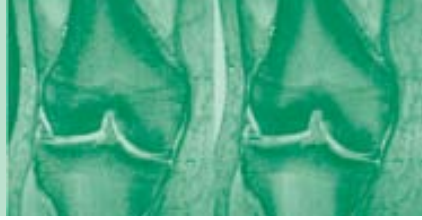


CONCLUSIONES

Cryopreservation does not alter the ultrastructure of the meniscus.

No existen diferencias entre el grupo de meniscos criopreservados y el grupo control, sugiriendo que la criopreservación puede ser mejor método de preservación que la congelación para los injertos meniscales.

La escala de arquitectura meniscal ha mostrado un alto coeficiente de correlación intraclase, lo que significa que es una técnica reproducible, pese a que su moderada correlación interclase hace que se precise de cierto entrenamiento si se pretende utilizarla.

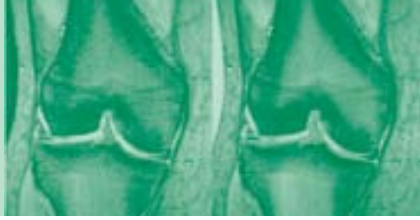


CONCLUSIONES

Meniscal allograft transplantation without bone blocks: a 5- to 8-year follow-up of 33 patients.

El trasplante meniscal alogénico mediante fijación con suturas consigue mejorar el dolor y la funcionalidad de la rodilla en pacientes sintomáticos a medio plazo, presentando una alta tasa de complicaciones (33%) y de cirugías de revisión.

La tasa de complicaciones ha hecho replantearnos la técnica de fijación, cambiándola por una fijación ósea para intentar disminuir la tasa de fracasos mecánicos así como el porcentaje de extrusión de los injertos.



COPIA DE LOS TRABAJOS

Freezing causes changes in the meniscus collagen net:
a new ultrastructural meniscus disarray scale

Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc
DOI 10.1007/s00167-007-0457-y

KNEE

Freezing causes changes in the meniscus collagen net: a new ultrastructural meniscus disarray scale

Pablo Eduardo Gelber · Gemma Gonzalez ·
José Luis Lloreta · Francisco Reina ·
Enrique Caceres · Juan Carlos Monllau

Received: 18 December 2006 / Accepted: 20 November 2007
© Springer-Verlag 2007

Abstract Alterations in meniscal permeability leading to nutritional deficit have been suggested as a cause of shrinkage in meniscal transplantation. The purpose of this study was to ascertain how freezing, one of the most common procedures used to preserve meniscal allografts, alters the collagen's architecture. Twenty-six fresh human external menisci were analyzed with transmission electron microscopy. Thirteen of them were previously frozen at -80°C while the rest were used as controls. A new scale of the collagen meniscal architecture was proposed according to the collagen's periodicity and degree of disruption, loss of banding, degree of collagen packing, fibril size variability and its intrafibrillar oedema. Each meniscus was scored from 0 to 7. Subsequently they were classified in

grades ranging from a normal state (grade I; 0–2 points) to severe disarray (grade III; 5–7 points). The fibril collagen diameters of those menisci which had been previously frozen showed an average size in the longitudinal section of 14.26 nm, whereas it was 17.28 nm in the menisci used as controls ($p = 0.019$). In the transverse section, the frozen menisci averaged 13.14 and 16.93 nm in the controls ($p = 0.003$). Samples of the 13 previously frozen menisci were classified as grade III in 61.54% of the cases. In the control group, all the menisci were classified either as grade I or II. The frozen menisci averaged 4.85 points, whereas the control group did so at 2.46 ($p < 0.001$). The fibril diameters in frozen menisci showed a thinner diameter and had a higher degree of disarray. Therefore, the results suggest that the freezing process alters the menisci's collagen net. This could partially explain the pathological changes found in shrunken menisci after transplantation.

Keywords Meniscus allograft · Shrinkage · Meniscal nutrition · Transmission electron microscopy

Introduction

Allograft meniscal transplantation (AMTX) was first introduced in the early 1980s by Carl Wirth's team in Germany [13]. It was initially used as an added surgical procedure in ligament-deficient knees. Some 20 years later, AMTX is even more widespread as a procedure thought as a potential solution for patients with early degenerative osteoarthritis and pain due to a previous meniscectomy [28]. Due to the lack of scientific evidence, its indications have not yet been expanded to prophylaxis for articular degenerative changes. A few long-term results of AMTX have recently been published [7, 28, 30]. These reports demonstrated good results

P. E. Gelber (✉) · G. Gonzalez · E. Caceres · J. C. Monllau
Department of Orthopaedic Surgery, URFOA-IMIM,
Hospital del Mar, Universitat Autònoma de Barcelona,
Passeig Marítim 25–29, 08003 Barcelona, Spain
e-mail: pgelber@imas.imim.es

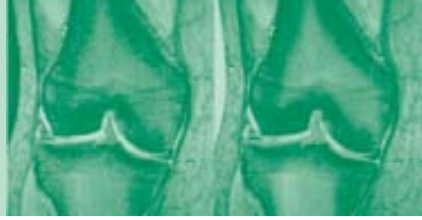
G. Gonzalez
e-mail: ggonzalez@imas.imim.es

E. Caceres
e-mail: ecaceres@imas.imim.es

J. C. Monllau
e-mail: jmonllau@imas.imim.es

J. L. Lloreta
Department of Pathology, URFOA-IMIM, Hospital del Mar,
Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain
e-mail: jlloreta@imas.imim.es

P. E. Gelber · F. Reina
Department of Morphological Sciences (Anatomy and
Embryology Unit), Faculty of Medicine, Universitat Autònoma
de Barcelona, Cerdanyola del Vallès, Spain
e-mail: francisco.reina@uab.es



with different types of meniscal preservation. While Wirth et al. [30] transplanted most of the menisci after deep freezing and Noyes et al. [15] using irradiated meniscal allografts, Verdonk et al. [27, 28] performed the AMTX using viable menisci to preserve meniscal allografts. Other authors have shown good mid-term results transplanting cryopreserved meniscal allografts [17, 25].

Shrinkage of the allograft is one of the most common complications seen after AMTX [17, 23]. It has been hypothesized that this phenomenon could lead to insufficient protection of the articular cartilage in transplanted knees [4, 10, 12]. Although the final causes of shrinkage have not been clearly defined, some degree of immune rejection [19] as well as alterations in meniscal permeability have been proposed [6]. According to Rodeo et al., subtle immune reactions, which might influence the healing process and structural remodeling of the graft, are present in most cases. However, there is no evidence that this affect the clinical outcomes.

On the other hand, alterations in meniscal permeability as a consequence of collagen net disarray can lead to a nutritional deficit. Changes in the meniscus collagen ultrastructure have been observed after immobilization in animal studies [16]. More recently, the meniscal architecture has been studied under the effects of different conditions, such as cryopreservation [3, 22], deep-frozen in liquid nitrogen [4], and lyophilization [13]. While lyophilization has demonstrated weakening menisci viability, no proven advantage of the other graft preservation modality has been shown over others [5, 9, 26]. Most studies have focused on the cellular viability of the grafts. Nevertheless, none have been centralized on the isolated effects of freezing at -80°C in the human meniscal collagen net. The purpose of the present study was to ascertain how freezing, one of the most common procedures used in European countries to preserve allografts, alters the collagen's architecture.

Materials and methods

To determine the meniscus architectural state, a transmission electron microscopy (TEM) study was designed. The changes seen, which had previously shown capital importance in meniscus function [4, 8, 16, 19, 22], were qualified and quantified and then recorded.

Meniscal harvesting

Twenty-six fresh human external menisci were harvested in sterile conditions during total knee replacement procedures (15 women, 11 men). Informed consent was obtained from each donor following the rules of our local Ethical Committee. Seventeen of the menisci were obtained from the left

side and the other nine from the right. Radiographic evaluations as well as clinical intraoperative assessments were performed in order to ascertain indemnity of the external femorotibial compartment. Cases with more than 50% of external joint space narrowing in the standing X-ray 45° posteroanterior position, macroscopic degeneration or even minimal calcification were all excluded from the study. Culture analysis was performed for each graft, and if positive, was also excluded. Thirteen out of 26 menisci were immediately frozen at -80°C (Forma Scientific Inc., Freezer, USA). After 7 days, they were thawed by immersion for 2 min in a 36°C sterile saline solution and then processed. The other 13 menisci were used as controls. Both groups were comparable in age and gender. The study group had a mean age of 75.69 ± 6.96 years (range 65–84) and the control group 71.38 ± 6.8 (range 59–83). One square centimeter from the inner part of the meniscus body was then sectioned into 1 mm^3 slices. Subsequently, they were embedded and preserved in a 2.0% glutaraldehyde solution. Within the succeeding 2 h of harvesting, all the samples were fixed and prepared to be analyzed by the pathologist.

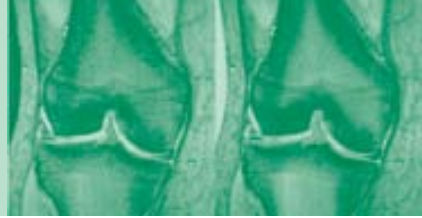
Transmission electron microscopy procedure

Due to the fact that the parties obtaining the initial menisci samples were also executing the final analysis of the histological sections, a double-blinded study design was implemented so as to minimize possible biases.

Forty sections of 1 mm^3 from each meniscus were immediately fixed in a 2.0% glutaraldehyde cacodylate buffer solution. Postfixation in osmium tetroxide was done before dehydration in increasing concentrations of ethanol. Next, the menisci sections were treated with propylene oxide and included in progressive concentrations of epon. The most representative zone was chosen with the help of the light microscope from five different toluidine blue stained $1\text{ }\mu\text{m}$ thickness sections. Ninety nanometer sections from the selected zone were finally stained with metals salts (uranyl acetate and lead citrate) and were analyzed with a transmission electron microscope (Philips, model #CM100, Holland). For each cross-section, four TEM photos were randomly taken.

Fibril collagen measurements and histological classification

Four hundred collagen fibrils were recorded and measured in longitudinal and transversal sections from every meniscus. The analyzed photographs were set at $19,000\times$ magnification. All measurements were determined with the help of an electronic digital calliper (ProMax, Fowler; USA, range 0–150 mm, resolution 0.02 mm).



Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc

A new Collagen Meniscal Architecture (CMA) scoring system was set based on the collagen's periodicity or cross-banding frequency and degree of disruption, loss of banding, degree of collagen packing, fibril size variability and its intrafibrillar oedema. On this scale, the meniscus scored from 0 to 7 following the established criteria (Table 1). The loss of banding and intrafibrillar oedema was a common finding in most samples. However, these phenomena were considered abnormal (positive), when present in more than 20% of the fibers. Nevertheless, packing and degree of disruption were considered the two variants that held the most influence due to their known role in meniscal nutrition [6, 16].

By adding up all items, when samples scored 0–2, they were classified as normal or grade I. Three or four points meant that the meniscus had moderate ultrastructural changes and was qualified as a grade II (Fig. 1). Finally, the menisci that showed a higher degree of disarray, scoring 5, 6 or 7, were classified as grade III.

Statistical analysis

Continuous variables are presented as mean ± standard deviation. Categorical variables are presented as percentages. Differences between normally distributed group data were analyzed by the unpaired Student's *t*-test. Either the chi-square Pearson or Fisher Exact test was used to compare categorical variables among groups. Statistical analysis was performed using SPSS 12 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Statistical significance was set at 0.05.

Results

Fibril collagen size

The fibril collagen diameters of those menisci which had been previously frozen showed an average size in the longitudinal section of 14.26 ± 2.59 nm, whereas the

Table 1 Collagen meniscal architecture scoring system

| | 0 Point | 1 Point | 2 Points |
|-------------------------|--------------|--------------|-------------|
| Disrup/periodicity | Mild | Moderate | Severe |
| Intrafibrillar oedema | No | Yes | – |
| Packing | High density | Intermediate | Low density |
| Banding | Yes | No | – |
| Fibril size variability | Low | High | – |

Each section was scored depending on five variables. Intrafibrillar oedema as well as absence of banding was considered positive when seen in more than 20% of the fibers. Grade I: 0–2 points, grade II: 3–4 points, grade III: 5–7 points

menisci used as controls averaged 17.28 ± 3.46 nm (*p* = 0.019). Similarly, in the transverse section, the frozen menisci looked thinner. They averaged 13.14 ± 2.99 nm while the control group did so at 16.93 ± 2.9 nm (*p* = 0.003) (Fig. 2).

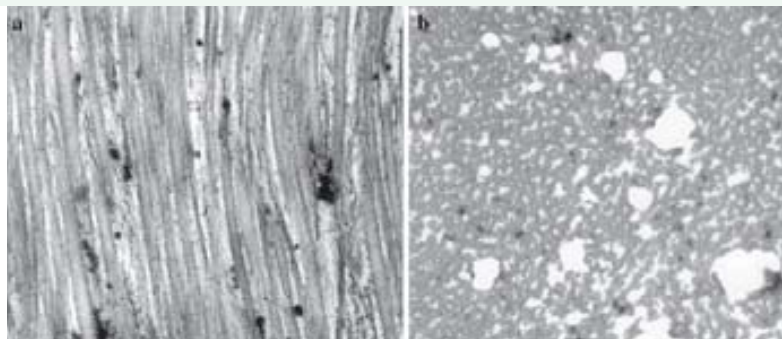
Architectural degree and scoring

There was a clear difference in both groups. Eight of the 13 previously frozen menisci (61.54% of the cases) were classified as grade III (Fig. 3). The remaining five (38.46% of the cases) were graded as II. The control group showed either a normal collagen net structure or a lower degree of disarray (Fig. 4). They were classified as grade I in six cases (46.15%) and grade II in seven cases (53.85%). When applying the scoring aspect of the scale, the frozen menisci averaged 4.85 points, whereas the control group did so at 2.46 (*p* < 0.001) (Fig. 5).

Discussion

Currently, several subjects are controversial in AMTX. Surgical techniques, indications, isolated versus associated lesions, effect in cartilage protection and method of graft

Fig. 1 TEM photographs of a meniscus which scored 4 points and therefore was classified as a grade II in the CMA scoring system. **a** Longitudinal section: moderate disruption of the architecture (1 point); both intrafibrillar oedema, and loss of banding, in more than 20% of the fibers (1 point each); **b** Transverse section: intermediate degree of packing (1 point) and low variability in the fibril size (0 point)



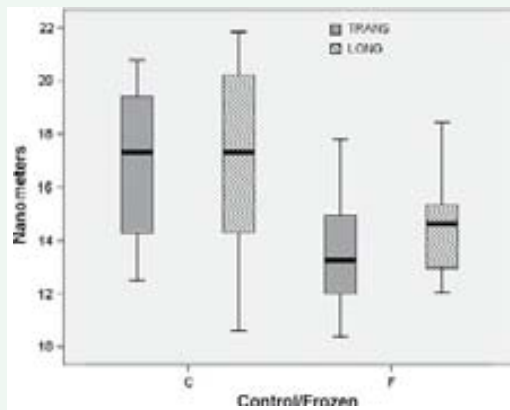
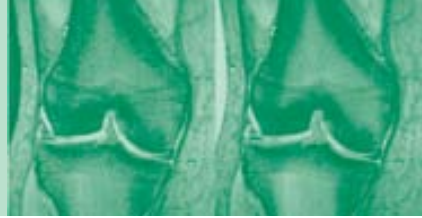


Fig. 2 Median diameter in nanometers both in transverse and longitudinal sections comparing the control versus the frozen group. The freezing process decreased the fibril collagen diameters in the transverse as well as in the longitudinal sections. *TRANS* transversal sections, *LONG* longitudinal sections

conservation are some of the most discordant topics. It is still not clearly demonstrated that AMTX prevents joint degeneration [27]. Nevertheless, in recent experimental works performed in a sheep model, meniscal transplant have been shown to have some chondral protective effect on the joint cartilage [1, 9, 14]. Clinical and pathological changes occurring when a meniscus retracts are not clearly defined [21]. Therefore, a shrunken meniscus should reduce its protective effect [18].

Little information is found in literature regarding the causes of meniscus synovialization. Freeze-drying (lyophilization) is one of the few causes that have certainly proven to increase the risk of meniscal size reduction [30]. A subtle immune rejection in the transplanted graft has also been proposed [11, 19]. The presence of HLA II and ABO antigens from dead synovial and endothelial cells found in meniscal tissue at the time of transplantation [19], and sensitization to class I and II HLA recipients of cryopreserved allografts [24] may support this theory. However, no

clinical evidence of frank immune rejection has been reported in medical literature.

A meniscal nutritional deficit might also be a possible cause of shrinkage. The meniscus is mainly an avascular structure, with perimeniscal vessels supplying only 10–30% of its periphery in adult human beings. The fibrocartilage’s mid-substance nutrition is brought on by solute diffusion from the periphery through the interfibrillar space [2, 4, 6, 16]. Ochi et al. [16] studied the effect of knee immobilization on the meniscus collagen net in an animal experiment. They suggested that an increased interfibrillar space might lead to a decreased solute diffusion. This enlarged space between the collagen fibers was also observed in the current study. Arnoczky et al. [4] analyzed transplanted meniscal allografts previously frozen at -80°C at 6 months follow-up in a canine model. Those menisci showed the central substance to be relatively acellular, suggesting a nutritional deficit in the inner layer of the fibrocartilage. This also was sustained by Gershuni et al. [6]. The same findings suggesting a possible cause of shrinkage were observed in the present work.

There are differences in the description of the same graft conservation technique as seen in various studies. Some of them described the deep freezing process as a sudden temperature drop; brought down within 1 min with the help of liquid nitrogen either to -80° [4] or to -196°C [29]. Others simply freeze the samples without processing either at -70°C [11] or at -80°C [5, 21, 26]. Deep freezing of the meniscal allograft at -80°C is one of the most common conservation methods used in orthopaedics. The main difference between fresh frozen and cryopreserved tissue is that the latter is able to keep some cells viable due to the use of an anti-freezing agent. In terms of biomechanics, the cryopreservation technique seems not to alter the microarchitecture or the material properties of the meniscus [3]. Some other investigations compared, in animal models, the effect of cryopreservation and direct freezing at -80°C . The menisci allografts were analyzed under light and polarized light microscopy [5] or TEM [20]. Their authors affirmed that although deep freezing

Fig. 3 TEM photographs of a meniscus which scored 7 points and therefore was classified as a grade III in the CMA scoring system. **a** Longitudinal section: severe disruption of the architecture (2 points), intrafibrillar oedema as well as loss of banding in most of the fibers (1 point each one); **b** Transverse section: low density packing (2 point) and high size fibril variability (1 point)

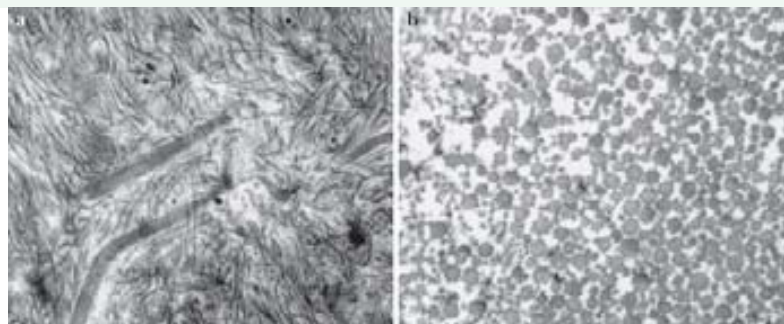


Fig. 4 TEM photographs of a meniscus which scored 0 points and therefore was classified as a grade I in the CMA scoring system. **a** Longitudinal section: normal or mild disruption of the architecture (0 points), intrafibrillar oedema rarely observed (0 points) and banding of the fibers is preserved (0 points); **b** Transverse section: high density fibril packing (2 points) and the fibril size is homogeneous (0 points)

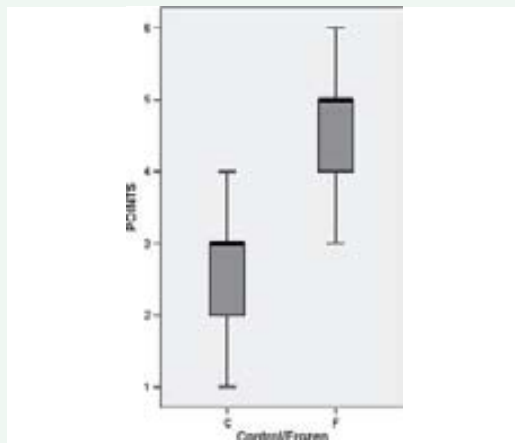
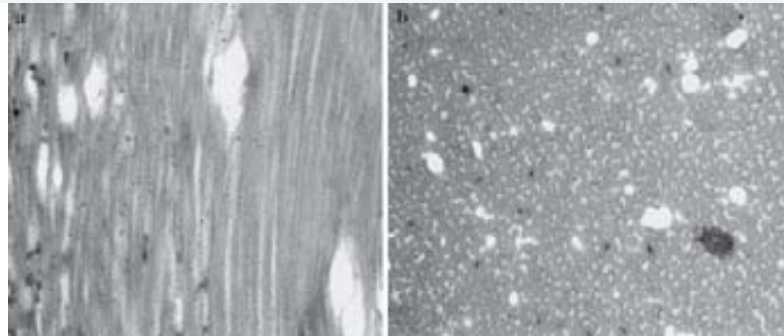


Fig. 5 Median score in nanometers when applying the collagen meniscal architecture (CMA) scoring system. Comparison between the control versus the frozen group. The menisci which had been previously frozen scored higher. Thus, the freezing process seemed to disarray the meniscal collagen net

completely destroys the cell components during the freezing process, the collagen net is kept intact. Some other researchers were in agreement with this observation [25]. Interestingly enough, there is a lack of ultrastructural studies on the effect of these aforementioned procedures on the collagen network. The ultrastructural findings observed in the present investigation are clearly in contrast with currently accepted knowledge.

There are some limitations to the present study. Besides the small sample number, the second and most important limitation is related to the fact that although performed in a

blind manner, we did not assess the agreement between observers to further validate the CMA scoring system accuracy. The third limitation perceived was that although the fibril collagen diameters were measured with the help of a precise electronic calliper, this was done manually. Fourth, even though the study and the control group were statistically comparable it would have been better to compare the freezing effect on the same meniscus instead of two different specimens. Finally, the specimens studied were all harvested from aged patients. Although it might have been interesting to include results from younger population, the possible bias was minimized by comparing an age-matched population

Despite these limitations, this new qualitative and quantitative scale system for assessing the collagen architecture state (CMA scoring system) seems to be a promising tool in evaluating the meniscal ultrastructure. This might also help predict a different risk of shrinkage depending on the allograft's ultrastructural grading before transplantation.

In conclusion, the present study showed how fibril diameters in frozen menisci had a thinner diameter and a higher degree of disarray. Therefore, the results suggest that the freezing process alters the menisci's collagen net in most cases. This could partially explain the pathological changes found in shrunken menisci.

Further studies are needed to ascertain if these changes are also present after different meniscal preserving procedures.

Acknowledgments The authors wish to thank the members of the Knee Unit for their contribution in the harvesting of the menisci samples. We are also grateful to Luis Magan for their technical assistance. Finally, we give thanks to Mr. Jose M Manresa for helping with the statistical analysis.

Appendix

Table 2.

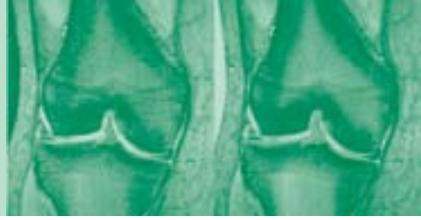
Table 2 Sample data

| No. | Group | Age | Gender | Side | Trans | Long | Grade | Points |
|-----|-------|-----|--------|------|--------|--------|-------|--------|
| 1 | C | 70 | M | L | 15,385 | 13,807 | 2 | 3 |
| 2 | C | 60 | F | R | 14,281 | 10,599 | 1 | 2 |
| 3 | C | 77 | F | L | 13,155 | 17,305 | 2 | 4 |
| 4 | C | 59 | F | R | 20,777 | 21,829 | 2 | 3 |
| 5 | C | 73 | M | L | 12,519 | 14,323 | 2 | 4 |
| 6 | C | 68 | F | R | 17,300 | 20,214 | 2 | 3 |
| 7 | C | 71 | F | L | 19,409 | 21,576 | 1 | 1 |
| 8 | C | 80 | M | R | 19,367 | 16,411 | 1 | 2 |
| 9 | C | 71 | F | L | 14,128 | 16,469 | 1 | 2 |
| 10 | C | 69 | F | R | 19,625 | 17,831 | 2 | 3 |
| 11 | C | 83 | M | R | 20,256 | 18,620 | 1 | 1 |
| 12 | C | 74 | M | L | 15,407 | 14,176 | 2 | 3 |
| 13 | C | 73 | F | L | 18,552 | 21,476 | 1 | 1 |
| 14 | F | 84 | F | L | 10,599 | 12,056 | 3 | 6 |
| 15 | F | 79 | F | L | 6,548 | 8,232 | 3 | 7 |
| 16 | F | 65 | M | L | 13,255 | 12,966 | 2 | 3 |
| 17 | F | 74 | M | L | 11,993 | 14,623 | 3 | 5 |
| 18 | F | 72 | F | R | 12,082 | 14,512 | 2 | 4 |
| 19 | F | 79 | F | L | 17,791 | 18,421 | 2 | 4 |
| 20 | F | 82 | F | L | 14,481 | 14,907 | 3 | 5 |
| 21 | F | 82 | M | L | 12,145 | 12,051 | 3 | 5 |
| 22 | F | 75 | M | R | 10,401 | 16,378 | 3 | 5 |
| 23 | F | 84 | M | L | 14,226 | 17,006 | 3 | 6 |
| 24 | F | 65 | M | R | 16,264 | 15,287 | 2 | 3 |
| 25 | F | 66 | F | L | 16,139 | 13,549 | 3 | 5 |
| 26 | F | 77 | F | L | 14,965 | 15,342 | 2 | 5 |

C control, *F* frozen, *Age* age in years, *L* left, *R* right, *Trans* median diameter in nanometers in transverse sections, *Long* median diameter in nanometers in longitudinal sections, *Grade* grade in the CMA scoring system, *Points* points in the CMA scoring system

References

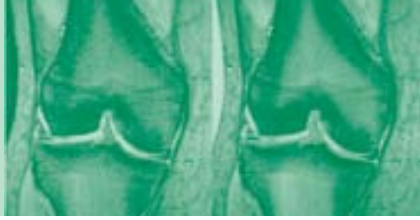
1. Aagaard H, Jörgensen U, Bojsen-Møller F (1999) Reduced degenerative articular cartilage changes after meniscal allograft transplantation in sheep. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 7:184–191
2. Arnoczky SP, Warren RF (1982) Microvasculature of the human meniscus. *Am J Sports Med* 10:90–95
3. Arnoczky SP, McDevitt CA, Schmidt MB, Mow VC, Warren RF (1988) The effect of cryopreservation on canine menisci: a biochemical, morphologic, and biomechanical evaluation. *J Orthop Res* 6:1–12
4. Arnoczky SP, Dicarolo EF, O'Brien SJ, Warren RF (1992) Cellular repopulation of deep-frozen meniscal autografts: an experimental study in the dog. *Arthroscopy* 8:428–436
5. Fabbriani C, Lucania L, Milano G, Schiavone Panni A, Evangelisti M (1997) Meniscal allografts: cryopreservation vs deep-frozen technique. An experimental study in goats. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 5:124–134
6. Gershuni DH, Hargens AR, Danzig LA (1988) Regional nutrition and cellularity of the meniscus. Implications for tear and repair. *Sports Med* 5:322–327
7. Graf KW Jr, Sekiya JK, Wojtyls EM (2004) Long-term results after combined medial meniscal allograft transplantation and anterior cruciate ligament reconstruction: minimum 8.5-year follow-up study. *Arthroscopy* 20:129–140
8. Gulisano M (1991) Scanning electron microscopy study of the meniscus of the knee in patients with anterior cruciate ligament lesions. *Arch Ital Anat Embriol* 96:55–65
9. Jackson DW, McDevitt CA, Simon TM, Arnoczky SP, Atwell EA, Silvino NJ (1992) Meniscal transplantation using fresh and cryopreserved allografts. An experimental study in goats. *Am J Sports Med* 20:644–656
10. Kelly BT, Potter HG, Deng X, Pearle AD, Turner AS, Warren SF, Rodeo SA (2006) Meniscal Allograft Transplantation in the Sheep Knee. Evaluation of the Chondroprotective Effects. *Am J Sport Med* 24 (Epub ahead)
11. Khoury MA, Goldberg VM, Stevenson S (1994) Demonstration of HLA and ABH antigens in fresh and frozen human menisci by immunohistochemistry. *J Orthop Res* 12:751–757
12. Mikic ZD, Brankov MZ, Tubic MV, Lazetic AB (1993) Allograft meniscus transplantation in the dog. *Acta Orthop Scand* 64:329–332



COPIA DE LOS TRABAJOS

Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc

13. Milachowski KA, Weismeier K, Wirth CJ (1989) Homologous meniscus transplantation. Experimental and clinical results. *Int Orthop* 13:1–11
14. Mora D, Alvarez E, Ripalda P, Forriol F (2003) Articular cartilage degeneration after frozen meniscus and Achilles tendon allograft transplantation: experimental study in sheep. *Arthroscopy* 19:833–341
15. Noyes FR, Barber-Westin SD (1995) Irradiated meniscus allografts in the human knee. A two to five year follow-up study. *Orthop Trans* 19:417
16. Ochi M, Kanda T, Sumen Y, Ikuta Y (1997) Changes in the permeability and histologic findings of rabbit menisci after immobilization. Changes in the permeability and histologic findings of rabbit menisci after immobilization. *Clin Orthop Relat Res* 334:305–315
17. Rath E, Richmond JC, Yassir W, Albright JD, Gundogan F (2001) Meniscal allograft transplantation. Two- to eight-year results. *Am J Sports Med* 29:410–414
18. Rijk PC, Van Noorden CJ (2002) Structural analysis of meniscal allograft after immediate and delayed transplantation in rabbits. *Arthroscopy* 18:995–1001
19. Rodeo SA, Seneviratne A, Suzuki K, Felker K, Wickiewicz TL, Warren RF (2000) Histological analysis of human meniscal allografts, a preliminary report. *J Bone Joint Surg Am* 82-A:1071–1082
20. Salai M, Givon U, Messer Y, von Versen R (1997) Electron microscopic study on the effects of different preservation methods for meniscal cartilage. *Ann Transplant* 2:52–44
21. Sekiya JK, Ellingson CI (2006) Meniscal allograft transplantation. *J Am Acad Orthop Surg* 14:164–174
22. Shibuya S (1999) Meniscus transplantation using a cryopreserved allograft. Histological and ultrastructural study of the transplanted meniscus. *J Orthop Sci* 4:135–141
23. Stollsteimer GT, Shelton WR, Dukes A, Bomboy AL (2000) Meniscal allograft transplantation: a 1- to 5-year follow-up of 22 patients. *Arthroscopy* 16:343–347
24. van Arkel ER, van den Berg-Loonen EM, van Wersh JW, de Boer HH (1997) Human leukocyte antigen sensitization after cryopreserved human meniscal transplantations. *Transplantation* 64:531–533
25. van Arkel ER, de Boer HH (2002) Survival analysis of human meniscal transplantations. *J Bone Joint Surg Br* 84:227–231
26. Verdonk R, Khon D (1999) Harvest and conservation of meniscal allografts. *Scand J Med Sci Sports* 9:158–159
27. Verdonk PCM, Demurie A, Almqvist KF, Veys EM, Verbruggen G, Verdonk R (2005) Transplantation of viable meniscal allograft. survivorship analysis and clinical outcome of one hundred cases. *J Bone Joint Surg Am* 87:715–724
28. Verdonk PCM, Verstraete KL, Almqvist KF, De Cuyper K, Veys EM, Verbruggen G, Verdonk R (2006) Meniscal allograft transplantation: long term clinical results with radiological and magnetic imaging correlations. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 14:694–706
29. Wada Y, Amiel M, Harwood F, Moriya H, Amiel D (1998) Architectural remodeling in deep frozen meniscal allografts after total meniscectomy. *Arthroscopy* 14:250–257
30. Wirth CJ, Peters G, Milachowski KA, Weismeier KG, Kohn D (2002) Long-term results of meniscal allograft transplantation. *Am J Sports Med* 30:174–81



COPIA DE LOS TRABAJOS

Cryopreservation does not alter the ultrastructure of the meniscus

Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc (2009) 17:639–644
DOI 10.1007/s00167-009-0736-x

KNEE

Cryopreservation does not alter the ultrastructure of the meniscus

Pablo Eduardo Gelber · Gemma Gonzalez ·
Raúl Torres · Natalia Garcia Giralt ·
Enrique Caceres · Juan Carlos Monllau

Received: 6 July 2008 / Accepted: 23 January 2009 / Published online: 19 February 2009
© Springer-Verlag 2009

Abstract Fresh frozen menisci have recently been shown to have an altered meniscal ultrastructure. The cause might be a deterioration of its permeability due to collagen net disarray. The purpose of this study was to evaluate the cryopreserved meniscus in terms of ultrastructure and cellularity. Ten fresh human lateral menisci were harvested. Collagen architecture was evaluated with transmission electron microscopy. The Collagen Meniscal Architecture scoring system was used to assess the degree of meniscal disarray. Cell population, was also evaluated. The fibril collagen diameters of those menisci which had been previously cryopreserved showed an average size in the longitudinal section of 12.6 ± 1.3 nm, whereas it was 13.4 ± 2.2 nm in the menisci used as controls (n.s.). In the transverse section, the cryopreserved menisci averaged 15.5 ± 2.4 and 16.7 ± 3.5 nm in the controls (n.s.). The study group scored 4.8 points ± 1.7 , whereas the control group did so at 4.1 ± 1.3 (n.s.). The percentage of cell survival after the cryopreservation ranged from 4 to 54. The fibril diameters and degree of disarray showed a similar distribution in both groups. The results suggest that meniscal cryopreservation does not alter the meniscal ultrastructure. Therefore, an allograft stored in that way would not alter its biomechanical properties, although its cellular viability is highly unpredictable.

Keywords Meniscus allograft · Shrinkage · Meniscal nutrition · Transmission electron microscopy · CMA scoring system

Introduction

When looking for a graft to be transplanted, one must wonder which properties the preserved tissue should possess if it is going to work for the patient. Does it have to contain metabolising cells that are capable of cell division or not? Does it have to maintain its architectural indemnity to function properly or not? It has been widely demonstrated that cellular repopulation occurs in the meniscal allograft after transplantation even if there is no viable cell at the moment of surgery [2, 16, 21]. Two of the most widely used meniscal allograft preservation techniques are simple freezing and cryopreservation. Freezing has been accepted as a simple way of preserving those tissues that only have to retain mechanical and some biochemical properties, for example bone tissue [12]. In the case of meniscal tissue, Fabbriciani et al. [5] have shown, in an animal model, that deep-freezing keeps its collagen net intact in a study with standard microscopy. Conversely, Gelber et al. [6] recently demonstrated that when ultrastructurally studied, this freezing process led to severe architectural disarray. According to Arnoczky et al. [2], this architectural disarray might make the menisci more susceptible to injury.

The main accepted advantage of cryopreservation over freezing is that it does not destroy cells. This ability is particularly true in cultured or isolated cells [17]. Tissues are obviously more complex than cell suspensions. Diffusion of solutes through the mass is different depending on the inherent tissue properties, the actual state of that

P. E. Gelber (✉) · G. Gonzalez · R. Torres · N. Garcia Giralt ·
E. Caceres · J. C. Monllau
Department of Orthopaedic Surgery, URFOA-IMIM, Hospital
Universitari del Mar, Universitat Autònoma de Barcelona,
Passeig Marítim 25-29, 08003 Barcelona, Spain
e-mail: pablogelber@gmail.com

specific sample, its response to the cryopreservant and to the slow cooling process [13].

In answer to the two previously posed questions, it seems that preserving the architectural characteristics of the meniscal allograft should be mandatory. Cell functioning at transplant might be considered a secondary issue, although some authors have proven otherwise [18–20].

In 1999, Shibuya studied the collagen net architecture in cryopreserved menisci transplanted into rabbits [15]. He measured the fibril collagen diameters and described the characteristics of the collagen bundles and the cellular aspect at weeks 0, 4, 8 and 16. Nevertheless, he did not analyze the characteristics of the menisci before they were cryopreserved. In addition, the description of the architecture was not performed with the help of a scale so as to make possible an objective comparison with other specimens [1, 16].

The purpose of this study was to evaluate the viability of cryopreserved menisci while focusing on their cellularity and in their ultrastructure. Our hypothesis was that a cryopreserved meniscus would keep its collagen net architecture intact while maintaining its cellular component.

Materials and methods

Meniscal harvesting

Ten fresh human lateral menisci were harvested in sterile conditions during total knee replacement procedures (7 women, 3 men). Informed consent was obtained from each donor following the guidelines laid down by our local Ethics Committee. Seven of the menisci were obtained from the right side and the other three from the left. Radiographic evaluations as well as clinical intraoperative assessments were performed in order to ascertain the indemnity of the lateral femorotibial compartment. Cases with more than 50% of lateral joint space narrowing in the standing 45° posteroanterior radiographs position, macroscopic degeneration or even minimal calcification were all excluded from the study. Culture analysis was performed for each graft and if positive, they were also excluded. Five menisci did not meet these criteria, so they were excluded and another five were consecutively harvested. The study group had a mean age of 74 years (range 66–82). One square centimetre from the bodies of each single menisci was divided into four sections. Two of them were immediately embedded in PBS plus 10% dimethyl sulfoxide (DMSO) at 4°C for 30 min. Subsequently they were slowly cooled at 1°C/min to –180°C in liquid nitrogen. After 14 days, they were thawed by immersion in a 36°C sterile saline solution for 2 min. One of the two pieces was then sectioned into 1 mm³ slices and preserved in a 2.0% glutaraldehyde solution. At no more than 2 h of harvesting, all the samples were fixed and prepared for

analysis by a pathologist with TEM. The other piece was embedded in DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium) supplemented with 10% FBS (foetal bovine serum) and incubated for 48 h and then processed to evaluate cell viability. Finally, the remaining two sections of the menisci were used as controls. One was used for the TEM analysis and the other one to evaluate the cell population of each harvested meniscus.

Transmission electron microscopy procedure

The architectural state of the menisci was analyzed with TEM. The changes observed were quantified and qualified according to the previously described scoring system [6].

Due to the fact that the parties obtaining the initial menisci samples were also executing the final analysis of the histological sections, a double-blinded study design was implemented so as to minimize possible biases.

Forty sections of 1 mm³ from each sample of the menisci were immediately fixed in a 2.0% glutaraldehyde cacodylate buffer solution. Postfixation in osmium tetroxide was done before dehydration in increasing concentrations of ethanol. Next, the menisci sections were treated with propylene oxide and included in progressive concentrations of epon. The most representative zone was chosen with the help of a light microscope (SMZ-10A, Nikon, Japan; 40× magnification) from five different 1 μm thick toluidine blue stained sections. Ninety nanometre sections from the selected zone were finally stained with metal salts (uranyl acetate and lead citrate) and were analyzed with a transmission electron microscope (Philips, model #CM100, Holland). For each cross-section, four TEM photos were randomly taken.

Cell viability assessment

The samples were washed with sterile PBS and then finely diced. For cell isolation, the diced menisci were incubated for 1 h with 0.5 mg/ml hyaluronidase (Sigma-Aldrich Química S.A.; Spain) in a shaking water bath at 37°C. The hyaluronidase was subsequently removed, and 1 mg/ml pronase (Merck, VWR International Inc.; USA) was added. After 90 min incubation in a shaking water bath at 37°C, the cartilage pieces were washed with supplemented [100 U penicillin, 100 μg streptomycin (Biological Industries Ltd; Israel) and 0.4% fungizone (Gibco-Invitrogen Corporation; USA)] DMEM (Life Technologies Inc.; USA). After removal of the medium, digestion was continued by the addition of 0.5 mg/ml of collagenase-IA (Sigma-Aldrich Química S.A.; Spain) in a shaking water bath kept at 37°C for 22–24 h. The resulting cell suspension was centrifuged and washed with DMEM supplemented with 10% FBS (Gibco-Invitrogen Corporation; USA). Tissue debris were treated

with trypsin–EDTA (Biological Industries Ltd; Israel) for 10 min at 37°C and filtered through a 70 µm pore nylon filter (BD Biosciences; Belgium) to remove it. Cells were centrifuged and washed with DMEM supplemented with 10% FBS. Finally, all cells of each meniscus were mounted on tissue culture plates with DMEM supplemented with 10% FBS. After 5 days of culture, the cells adhered to the plates were counted.

Fibril collagen measurements and histological classification

Four hundred collagen fibrils were recorded and measured in longitudinal and transversal sections from every meniscus. Based on a recent study [6], the analyzed photographs were set at 19,000× magnification. All measurements were determined with the help of an electronic digital calliper (ProMax, Fowler; USA Range 0–150 mm, resolution 0.02 mm) and then multiplied by 19,000 to get the corresponding measure in nm.

According to the recently published Collagen Meniscal Architecture (CMA) scoring system [6], the collagen's periodicity and degree of disruption, loss of banding, degree of collagen packing, fibril size variability and its intrafibrillar oedema were evaluated. On this scale, the meniscus scored from 0 to 7. Following the established criteria, they were classified in grades ranging from a normal state (grade I 0–2 points) to severe disarray (grade III 5–7 points). As the reliability of the CMA scoring system was unknown, the intra and extra-class correlation coefficients were calculated. Whereas intra-observer reliability was evaluated at a 30-day period interval, inter-observer reliability was calculated with four people who were pre-instructed at the same time. They then individually evaluated the meniscus sections.

Statistical analysis

Continuous variables are presented as mean ± standard deviation. Categorical variables are presented as percentages. After testing the normal distribution of the differences with the Q–Q plot, differences were analyzed with the paired Student's *t* test. Statistical analysis was performed using SPSS 12 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). Statistical significance was set at 0.05.

Results

Fibril collagen size

The fibril collagen diameters of those menisci which had been previously cryopreserved showed an average size in

the longitudinal sections of 12.6 ± 1.3 nm, whereas the menisci used as controls averaged 13.4 ± 2.2 nm (n.s.). In the transverse sections, the cryopreserved menisci averaged 15.5 ± 2.4 nm while the control group did so at 16.7 ± 3.5 nm (n.s.).

Architectural degree and scoring

When applying the CMA scoring system, a clear difference in both groups was not found. Five out of ten previously cryopreserved menisci were classified as grade III. Four of the samples were graded as II and the remaining meniscus as I (Fig. 1). In the control group, five out of ten samples were graded as III. Three menisci were classified as grade II and the other two as grade I (Fig 2). Similarly, the scoring aspect of scale did not show a clear difference either. The cryopreserved menisci averaged 4.8 points ± 1.7, whereas the control group did so at 4.1 ± 1.3 (n.s.).

The calculated intra-class correlation was qualified as excellent with a kappa coefficient of 0.912 (95% CI 0.795–0.964). On the other hand, the inter-class correlation between observers was considered only moderate, with a kappa coefficient of 0.51 (95% CI 0.25–0.73).

Cell viability

The mean survival cell viability was 23%. A wide ranging rate of cell survival was observed, from 4 to 54%.

Discussion

Several topics are still controversial in meniscal transplantation, one of them being the storage technique. The

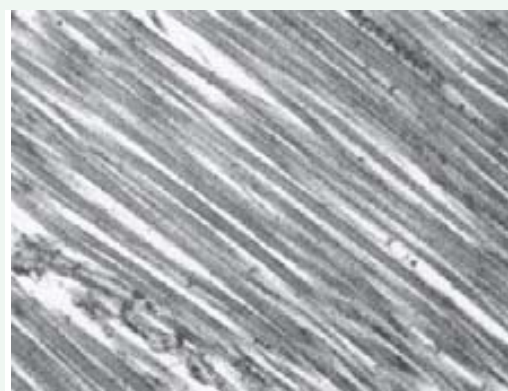


Fig. 1 TEM photographs of a meniscus. The cryopreserved meniscus show a moderate degree of disarray (CMA scoring system: 4 points, grade II)

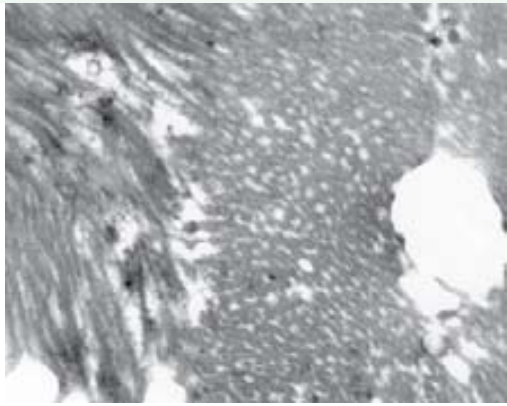


Fig. 2 The same meniscus as in Fig. 1. Longitudinal and transversal section of the same meniscus used as control. This sample scored 3 points in the CMA scoring system, therefore it has also been graded as II

current study showed that cryopreservation does not alter the meniscal ultrastructure. The biomechanical behaviour of the meniscus depends on its particular collagen organization. Therefore, an ideal preservation method should not harm this fine structure array. Freeze-drying is not currently being performed because it has been demonstrated that the high temperatures required lead to an unwanted molecular cross linkage that has a deleterious effect on the mechanical properties. Subsequently, it results in a high graft failure rate [22]. The main difference between freezing and cryopreservation depends on the latter's ability to keep some cells viable due to the use of an anti-freezing agent. In 1997, Fabbriani et al. [5] and Salai et al. [15] compared, in animal models, the effect of cryopreservation versus fresh freezing on meniscal grafts. In the first mentioned instance, the menisci allografts were analyzed under light and polarized microscopy. In the latter case, this was performed using TEM. They both affirmed that although the deep-freezing process completely destroys the cell components, the collagen net is kept intact.

More recently, it has been shown that the freezing process does alter the menisci's collagen net when ultra-structurally studied [6]. The authors performed their study comparing menisci from different aged donors. As the higher water content that aged menisci have may influence the cooling process, the same meniscus instead two different specimens were analyzed in each case in the present study. That prior work reported that the collagen fibrils in fresh frozen menisci have a thinner diameter. Based on a newly described scale, the menisci also showed a higher degree of disarray. The authors speculated that this

phenomenon might contribute to meniscal shrinkage [6], although this was a complication mainly reported with lyophilized menisci [22].

Little evidence exists on the mechanical effects of the different storage techniques on soft tissues. In the case of tendons, it has been demonstrated that the freezing process has a tendency to alter the collagen architecture of the posterior tibialis tendons [7]. This leads to a decrease in the ultimate tensile load and ultimate tensile deformation. With regards to the meniscus, Lewis et al. [10] recently demonstrated that menisci that underwent a single freeze–thaw cycle have a significantly higher Young's modulus than those undergoing multiple freeze–thaw cycles. The authors concluded that this fact might compromise the allograft's ability to resist compression. They did not provide an explanation for the change in intrinsic compressive resistance based on its histological or biochemical findings. Perhaps, this is because no ultrastructural assessment was done.

The meniscus is mainly an avascular structure. Its substance nutrition is fed by solute diffusion from the periphery on through the interfibrillar space. Ochi et al. [12] demonstrated that an abnormally higher interfibrillar space leads to a decrease in solute diffusion. Subsequently, it seems logical to look for a storage technique that produces no change or minimal changes in the menisci's collagen architecture.

Verdonk et al. [18, 20] performed allograft meniscal transplantations using fresh viable menisci. They state that not only does it contribute to cell survival but also to cell matrix production. Thus, it makes for a real functioning cell. Although they do not focus their works on the ultrastructural aspects of those grafts, we can hypothesise that it remains unchanged.

Cryopreservation is used worldwide as an allograft conservation method. Due to the fact that some time after transplantation the allograft nearly has solely host DNA [4], the advocated advantage of being a cell preservation technique might then seem to be a secondary issue. The reported percentage of cell survival after cryopreservation ranges from 10 to 30% [20]. In the present work, a wider range of cell survival ranging from 4 to 54% was observed. Therefore, keeping the collagen net architecture intact might be the main advantage of cryopreservation over the freezing procedure.

Limited clinical information comparing the different meniscal storage techniques is currently available in the same study. One of the few evidential sources comes from the Wirth et al. [21] group. These authors reported superior results with fresh frozen as opposed to lyophilized meniscal allografts, although the study was non-random and the analysis retrospective. The study of Noyes et al. [11] have also shown that gamma irradiation has a tendency to

weaken menisci viability, although 64 out of the 82 operated knees were also subjected to ACL repair which could have altered the clinical results. In most of the published long-term works [8, 9, 19], all of which have demonstrated good clinical results, different meniscal storage techniques were used. None of these different conservation techniques has shown any proven clinical advantage. The fact that these studies are not comparable does not aid in extracting any valid conclusion.

The CMA scoring system used in the present work, showed a high intra-class correlation coefficient. This means that it is a reproducible technique. Nevertheless, the moderate inter-class correlation coefficient among observers suggests that previous training would be necessary in order to extend its reliable use.

There are some limitations to the present study. One is the fact that the study was performed with meniscal tissue harvested in aged patients, which is known to have higher water content. However, the same specimens were used as experimental and control groups to thereby minimize any possible bias. The second is related to the fact that although the fibril collagen diameters were measured with the help of a precise electronic calliper, this was done manually. It could have been solved with the help of image analysis

software previously described [3]. Finally, although we have obtained a very limited section of the menisci to perform all the analysis, it is known that cell viability is highly different from one location to another [14]. This could partially explain the differences found in cell survival, even though similar results have been found by others authors [20].

Gelber et al. [6] showed that the fibril collagen in frozen menisci had a thinner diameter and a higher degree of disarray, suggesting that the freezing process alters the menisci's collagen net. In the present study, the fibril diameters and degree of disarray showed no differences in either groups. Therefore, the results suggest that, for meniscal allografts, cryopreservation might be a better storage technique than freezing.

In conclusion, cryopreservation has been shown not to alter the meniscal collagen net architecture while it does affect cellular viability with great variability (Table 1).

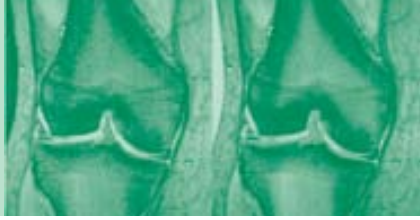
References

1. Arnoczky SP, McDevitt CA, Schmidt MB, Mow VC, Warren RF (1988) The effect of cryopreservation on canine menisci: a biochemical, morphologic, and biomechanical evaluation. *J Orthop Res* 6:1–12
2. Arnoczky SP, Dicarolo EF, O'Brien SJ, Warren RF (1992) Cellular repopulation of deep-frozen meniscal autografts: an experimental study in the dog. *Arthroscopy* 8:428–436
3. Chen J, Iosifidis M, Zhu J, Tatarinsev I, Wang J (2006) Vanadate ingestion enhances the organization and collagen fibril diameters of rat healing medial collateral ligaments. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 14:750–755
4. DeBeer P, Decorte R, Delvaux S, Bellemans J (2000) DNA analysis of a transplanted cryopreserved meniscal allograft. *Arthroscopy* 16:71–75
5. Fabbriani C, Lucania L, Milano G, Schiavone Panni A, Evangelisti M (1997) Meniscal allografts: cryopreservation versus deep-frozen technique. An experimental study in goats. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 5:124–134
6. Gelber PE, Gonzalez G, Lloreta JL, Reina F, Caceres E, Monllau JC (2008) Freezing causes changes in the meniscus collagen net: a new ultrastructural meniscus disarray scale. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 16:353–359
7. Giannini S, Buda R, Di Caprio F, Agati P, Bigi A, De Pascuale V, Ruggeri A (2008) Effects of freezing on the biomechanical and structural properties of human posterior tibial tendons. *Int Orthop* 32:145–151
8. Graf KW Jr, Sekiya JK, Wojtys EM (2004) Long-term results after combined medial meniscal allograft transplantation and anterior cruciate ligament reconstruction: minimum 8.5-year follow-up study. *Arthroscopy* 20:129–140
9. Hommen JP, Applegate GR, Del Pizzo W (2007) Meniscus allograft transplantation: ten year results of cryopreserved allografts. *Arthroscopy* 4:388–393
10. Lewis PB, Williams JM, Hallab N, Viridi A, Yanke A, Cole BJ (2008) Multiple freeze–thaw cycled meniscal allograft tissue: a biomechanical, biochemical, and histologic analysis. *J Orthop Res* 1:49–55

Table 1 Sample data

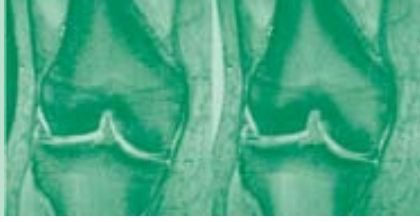
| # | Group | Age | Trans | Long | Grade | Points | Cell/g | % Cell |
|----|-------|-----|-------|------|-------|--------|-----------|--------|
| 1 | F | 66 | 15.4 | 13.8 | 3 | 5 | 1,050,000 | |
| 2 | F | 82 | 14.3 | 10.6 | 3 | 5 | 628,930 | |
| 3 | F | 70 | 13.2 | 17.3 | 3 | 6 | 66,666 | |
| 4 | F | 78 | 20.8 | 21.8 | 3 | 5 | 264,705 | |
| 5 | F | 78 | 12.5 | 14.3 | 1 | 2 | 70,000 | |
| 6 | F | 78 | 17.3 | 20.2 | 3 | 5 | 31,250 | |
| 7 | F | 76 | 19.4 | 21.6 | 2 | 4 | 292,857 | |
| 8 | F | 73 | 19.4 | 16.4 | 1 | 1 | 25,000 | |
| 9 | F | 69 | 14.1 | 16.7 | 2 | 3 | 111,111 | |
| 10 | F | 67 | 19.6 | 17.8 | 2 | 4 | 100,000 | |
| 1 | C | | 10.6 | 12.1 | 2 | 5 | 250,000 | 23.8 |
| 2 | C | | 6.5 | 8.2 | 2 | 5 | 117,647 | 18.7 |
| 3 | C | | 13.3 | 12.9 | 3 | 6 | 16,666 | 24.9 |
| 4 | C | | 11.9 | 14.6 | 2 | 4 | 70,000 | 26.4 |
| 5 | C | | 12.1 | 14.5 | 3 | 5 | 37,500 | 53.5 |
| 6 | C | | 17.8 | 18.4 | 3 | 5 | 13,846 | 44.3 |
| 7 | C | | 14.5 | 14.9 | 3 | 5 | 45,882 | 15.7 |
| 8 | C | | 12.1 | 12.1 | 1 | 2 | 1,136 | 4.5 |
| 9 | C | | 10.4 | 16.4 | 2 | 4 | 4,444 | 3.9 |
| 10 | C | | 14.2 | 17.0 | 3 | 7 | 15,384 | 15.4 |

F fresh/control, C cryopreserved, Age age in years, L left, R right, Trans median diameter in nanometers in transverse sections, Long median diameter in nanometers in longitudinal sections, Grade grade in the CMA scoring system, Points points in the CMA scoring system, Cell/g cells per gram, % Cell percentage of cell survival



COPIA DE LOS TRABAJOS

11. Noyes FR, Barber-Westin SD, Butler DL, Wilkins RM (1998) The role of allografts in repair and reconstruction of knee joint ligaments and menisci. *Instr Course Lect* 47:379–396
12. Ochi M, Kanda T, Sumen Y, Ikuta Y (1997) Changes in the permeability and histologic findings of rabbit menisci after immobilization. *Clin Orthop Relat Res* 334:305–315
13. Pegg DE (2006) The preservation of tissues for transplantation. *Cell Tissue Bank* 7:349–358
14. Rodeo SA, Seneviratne A, Suzuki K, Felker K, Wickiewicz TL, Warren RF (2000) Histological analysis of human meniscal allografts, a preliminary report. *J Bone Joint Surg Am* 82-A:1071–1082
15. Salai M, Givon U, Messer Y, von Versen R (1997) Electron microscopic study on the effects of different preservation methods for meniscal cartilage. *Ann Transplant* 2:52–54
16. Shibuya S (1999) Meniscus transplantation using a cryopreserved allograft. Histological and ultrastructural study of the transplanted meniscus. *J Orthop Sci* 4:135–141
17. Sumida S (2006) Transfusion and transplantation of cryopreserved cells and tissues. *Cell Tissue Bank* 7:265–305
18. Verdonk PCM, Demurie A, Almqvist KF, Veys EM, Verbruggen G, Verdonk R (2005) Transplantation of viable meniscal allograft: survivorship analysis and clinical outcome of one hundred cases. *J Bone Joint Surg Am* 87:715–724
19. Verdonk PCM, Verstraete KL, Almqvist KF, De Cuyper K, Veys EM, Verbruggen G, Verdonk R (2006) Meniscal allograft transplantation: long-term clinical results with radiological and magnetic imaging correlations. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 14:694–706
20. Verdonk R, Khon D (1999) Harvest and conservation of meniscal allografts. *Scand J Med Sci Sports* 9:158–159
21. Wada Y, Amiel M, Harwood F, Moriya H, Amiel D (1998) Architectural remodeling in deep frozen meniscal allografts after total meniscectomy. *Arthroscopy* 14:250–257
22. Wirth CJ, Peters G, Milachowski KA, Weismeier KG, Kohn D (2002) Long-term results of meniscal allograft transplantation. *Am J Sports Med* 30:174–181



COPIA DE LOS TRABAJOS

Meniscal allograft transplantation without bone blocks:
a 5- to 8-year follow-up of 33 patients

Meniscal Allograft Transplantation Without Bone Blocks: A 5- to 8-Year Follow-Up of 33 Patients

Gemma González-Lucena, M.D., Pablo Eduardo Gelber, M.D., Ph.D., Xavier Pelfort, M.D.,
Marc Tey, M.D., and Juan Carlos Monllau, M.D., Ph.D.

Purpose: The purpose of this study was to evaluate the functional and radiographic results on a midterm basis, as well as complications, in an initial series of meniscal allograft transplantations performed with suture fixation without any bone block. **Methods:** A series of 33 meniscal allograft transplantations were performed at our institution from January 2001 to October 2003. Inclusion criteria were patients with compartmental joint line pain due to a previous meniscectomy. There were 24 men and 9 women with a mean age of 38.8 years (range, 21 to 54 years). The functional outcomes were evaluated by use of Lysholm and Tegner scores at a mean and minimum follow-up of 6.5 years and 5 years, respectively. A visual analog scale for pain was also used. Radiographic assessment included joint space narrowing on the Rosenberg view and magnetic resonance imaging evaluation. **Results:** The Lysholm and Tegner scores significantly improved from 65.4 to 88.6 ($P < .001$) and from 3.1 to 5.5 ($P < .001$), respectively, after surgery. The visual analog scale score significantly dropped from 6.4 to 1.5 ($P < .001$). The radiographic evaluation did not show any joint space narrowing ($P = .38$). Meniscal extrusion was a constant finding, averaging 36.3% of total meniscal size. According to the Van Arkel criteria, the survival rate was 87.8% at 6.5 years. The rate of complications was 33%. **Conclusions:** This study suggests that this procedure provides significant pain relief and functional improvement in selected symptomatic individuals on a midterm basis. However, there was a high rate of complications (33%) and revision surgery. **Level of Evidence:** Level IV, therapeutic case series.

The menisci consist of fibrocartilage and play an important role in shock absorption, load transmission, and stabilization of the knee joint. King¹ experimentally showed the degenerative changes that oc-

curred in a dog after meniscectomy. Some years later, Fairbank² described the same arthritic changes that appear in a meniscectomized knee in human beings. Other researchers have since confirmed those findings.³⁻⁵ These changes are due to the loss of biomechanical functions of the meniscus itself.^{6,7} Despite this, total meniscectomy was the treatment of choice for a meniscal rupture for a long period of time. It provided excellent clinical results in the short term, although the long-term results were not so good because of cartilage damage.

In an attempt to restore the normal anatomy and biomechanics of the knee after a meniscectomy, meniscal allografts have been used to replace menisci in selected individuals with symptomatic knees. The transplantation of a meniscus as a free graft was developed in Germany in the mid 1980s.⁸ However, 2 surgical teams in North America experimented with

From the Department of Orthopaedic Surgery, Hospital de Sant Pau (G.G.-L., P.E.G., J.C.M.); Department of Orthopaedic Surgery, Hospital Universitari del Mar (X.P.); and Institut Universitari Dexeus (X.P., M.T., J.C.M.), Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain.

The authors report no conflict of interest.

Received October 2, 2009; accepted May 4, 2010.

Address correspondence and reprint requests to Gemma González-Lucena, M.D., Department of Orthopaedic Surgery, Hospital de Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Sant Antoni Maria Claret 167, 08025, Barcelona, Spain. E-mail: gemaglu@gmail.com

© 2010 by the Arthroscopy Association of North America
0749-8063/9594/\$36.00
doi:10.1016/j.arthro.2010.05.005

massive fresh osteochondral allografts, including the corresponding meniscus, to reconstruct post-traumatic defects of the tibial plateau a decade earlier.^{9,10}

Meniscal allograft transplantation (MAT) has yielded favorable results and provided significant pain relief and functional improvement on a short- and medium-term basis. There are few series with long-term results reported in the literature,¹¹⁻¹³ and it is difficult to compare those because of the combination of procedures used.¹⁴ The factors limiting comparisons also include graft preservation methods, fixation techniques, and outcome evaluation criteria.

One of the goals of a meniscal transplant is to restore the mechanical properties of the meniscectomized knee. Cadaveric studies have shown that secure anatomic fixation of bone plugs is required to restore normal contact mechanics for medial and lateral allografts, whereas the joint load distributions are similar to meniscectomized knees when only suture fixation is performed.¹⁵⁻¹⁷ McDermott et al.,¹⁸ in a recent study, reported on the effects of lateral meniscal allograft transplantation with bone plugs and with sutures on tibiofemoral contact pressures in vitro. They found that both fixation methods reduce the peak articular contact pressures in meniscectomized knees, even if only fixed by suturing. The aforementioned findings suggest that a chondroprotective effect is operative by use of methods. Therefore a small advantage was found when securing the allografts with bone fixation in addition to the use of the sutures. The rationale for not using bone blocks in our series was based on the lack of definitive clinical data relative to the superiority of the bone block technique, as well as our previous experience with the use of Collagen Meniscus Implant (ReGen Biologics, Franklin Lakes, NJ). Meniscal allografts without bone blocks or even without bone fixation have been extensively used in Europe. In fact, Van Arkel and De Boer¹⁹ and Verdonk²⁰ reported favorable outcomes with only soft-tissue fixation, and their experiences are among the longest in the world.

Controversy exists as to whether MAT prevents or at least slows cartilage degeneration in a previously meniscectomized compartment.^{21,22}

The aim of this work was to assess the functional and radiographic results on a midterm basis, as well as the complications encountered, in the first MAT series performed at our institution by means of suture fixation without any bone block. The hypothesis was that MAT significantly decreases compartmental pain and improves the function of the previously meniscectomized knee on a midterm basis.

METHODS

From January 2001 through October 2003, 33 MATs were performed at our institution by the senior surgeon in patients with persistent compartmental joint line pain due to a previous meniscectomy in an otherwise well-aligned knee. Normal alignment was considered up to 5° varus alignment and 7° valgus alignment.

An anterior cruciate ligament (ACL)-deficient knee was not considered a contraindication if the ligament was reconstructed at the same time as the transplant. Patients who had severe degenerative joint disease defined by advanced Fairbank changes, which means a completely collapsed compartment on the Rosenberg view, were excluded. The series was composed of 24 men and 9 women with a mean age of 38.8 years (range, 21 to 54 years). Nineteen MATs were performed to replace the lateral meniscus and 14 to replace the medial meniscus. The mean time from meniscectomy to transplant was 11.2 years (range, 2 to 25 years).

Additional procedures were performed in 13 patients (39%): ACL reconstruction in 8, microfracture in 8, and chondral shaving in 9 (Table 1). The clinical follow-up was 6.5 years (78 months) (range, 63 to 96 months).

Type of Graft

Fresh-frozen (−80°C) non-irradiated, non-antigen-matched meniscal allografts were used in this series. The allografts were supplied by local authorized tissue banks. Allograft sizing was done according to the morphometric dimensions (weight and size), as well as the radiographic measures of the donor's and recipient's knee, as described by Pollard et al.²³

Surgical Technique

The surgical technique was completely arthroscopic. After a complete diagnostic arthroscopy, debridement of meniscal remnants was done to achieve

TABLE 1. Number of Patients With Additional Procedures

| | Additional Procedures |
|--------------------|-----------------------|
| ACL reconstruction | 8 |
| Microfractures | 8 |
| Chondral shaving | 9 |

NOTE. Some patients underwent more than 1 procedure at the same time as transplantation.



FIGURE 1. High-strength suture with a Krackow mattress placed at anterior horn of medial allograft meniscus.

a good bleeding bed. Then, two 6-mm bone tunnels were drilled at the anatomic sites of meniscal insertion: one at the anterior horn and the other at the posterior horn. After the allograft was thawed in a saline solution bath at 36°C, high-strength sutures (FiberWire; Arthrex, Naples, FL) with a Krackow mattress were then placed at both horns (Fig 1). One additional vertical mattress suture was placed from 1.5 cm of the posterior horn. The posterior-horn suture was used to pull the meniscal allograft in place. The additional vertical suture aids in situating the graft and avoids an additional approach because it is to be retrieved with an outside-in technique. Once the allograft was well fixed to the rim, by use of an inside-out technique with vertical mattress sutures (SharpShooter; ConMed Linvatec, Largo, FL) (Fig 2), the sutures placed in the anterior and posterior horns were tied together over the tibia cortical surface.

Major concomitant procedures included treatment of cartilage injuries and ACL reconstruction or revision. In the case of localized Outerbridge grade IV cartilage injuries, we made microfractures on the bone that had undergone eburnation to promote a healing response. Debridement and shaving were used in cartilage lesions graded as III or less to obtain smooth articular surfaces. When necessary, a standard arthroscopic ACL reconstruction was performed as a final step. This allowed for maximum joint line distraction, especially in stiff joints, at the time of the transplant. The tibial bone tunnel for the ACL graft had previously been established to avoid wall breakage between the different bone tunnels.

Postoperative Protocol

Immediate quadriceps and hamstring muscle exercises, as well as passive range of motion from 0° to 60°, were initiated. Range of motion progressed gradually to 90° of flexion by the end of the first month. Partial weight bearing with a knee immobilizer was allowed at 3 weeks and progressed to full weight bearing at about 6 weeks. Patients returned to a normal workload by the fourth month after surgery. Running was allowed by the sixth month, depending on patient compliance.

Functional and Radiologic Evaluation

Functional follow-up included the 100-point Lysholm score as well as the Tegner score. The Lysholm score was interpreted as follows: excellent, greater than 94 points; good, 84 to 94 points; fair, 65 to 83 points; and poor, less than 65 points.^{24,25} A 10-point visual analog scale (VAS) for pain was also used.

Patient satisfaction was evaluated with a subjective score and graded as follows: very satisfied (4 points), satisfied (3 points), neutral (2 points), dissatisfied (1 point), and very dissatisfied (0 points).

Radiographic assessment included a weight-bearing long standing radiograph, as well as the posteroanterior Rosenberg view at 45° of flexion. Because one of the potential effects of MAT might be preservation of the cartilage, we focused on joint space narrowing in the involved compartment measured preoperatively



FIGURE 2. Arthroscopic view of meniscal allograft after fixation to rim by use of vertical sutures.

and at final follow-up. The shortest distance between the femoral condyle and tibial plateau of the involved compartment on a posteroanterior Rosenberg view at 45° of flexion was taken as a measure of joint space narrowing.

Magnetic resonance imaging (MRI) evaluation was also done to assess the allograft evolution and possible extrusion in coronal views. All studies were performed at 5 years of follow-up with a superconductive 1.9-T system (Prestige 2T; Elscint, Haifa, Israel) with a quadrature extremity coil. A positioning device for the ankle was used to ensure uniformity between patients. The standard knee protocol for each subject consists of a sagittal fat-saturated proton density-weighted sequence, a coronal T1-weighted sequence, a coronal STIR-weighted sequence (Short T1 Inversion Recovery), and an axial fat-saturated proton density-weighted sequence. A slice thickness of 3 mm with no intersection gap was used. Extrusion was defined as the greatest distance from the most peripheral aspect of the meniscus to the border of the tibia divided by the total width of the meniscus on the same magnetic resonance coronal image. A proportional sizing method, presented not in absolute values but as a percentage of the menisci that passes the tibial plateau limit, was used in this series. This was done to standardize the degree of extrusion to the different sized knees.²⁶

Preoperative and postoperative radiologic measures were analyzed by means of the ePACS viewer (version 5.0.0.0; Real Time Image, San Bruno, CA) for clinical imaging.

Medial allografts were also compared with lateral allografts at final follow-up.

The entire functional evaluation was performed by 1 observer, who was not the surgeon.

Statistical Analysis

Categorical variables are presented as percentages and frequencies. Continuous variables are presented as mean \pm standard deviation. After testing

the normal distribution of the differences between the preoperative and postoperative scores with the Kolmogorov-Smirnov method, we analyzed differences with the paired Student *t* test. Statistical analysis was performed by use of SPSS software (version 13.0; SPSS, Chicago, IL). Statistical significance was set at 0.05.

RESULTS

At a mean of 78 months, all but 1 of the patients were available for follow-up. This patient did well for about 2 years and then died of an unrelated disease.

Functional Results

The Lysholm score improved from 65.4 ± 11.6 to 88.6 ± 7 after the treatment ($P < .001$). The final Lysholm score was excellent in 9 patients (28.1%), good in 13 (40.6%), and fair in 10 (31.2%). Thus, in 68.7% of the patients in this series, the results were good or excellent.

The mean follow-up Tegner score of 5.5 ± 2.1 was significantly improved compared with the mean pre-treatment score of 3.1 ± 2.1 ($P < .001$).

The mean VAS score improved by 4.8 points. It dropped from a mean of 6.4 ± 2 to 1.5 ± 1.2 at follow-up ($P < .001$).

When the results were analyzed by compartment (medial *v* lateral), there were no differences found in the final Lysholm, Tegner, and VAS scores (Table 2). The final Lysholm score was 86.6 in the subgroup undergoing ACL reconstruction and 90 in the group undergoing microfracture, whereas it was 88.6 for the whole series. Therefore no significant differences were found among the subgroups ($P > .05$).

The satisfaction of the patients with regard to the procedure was 3.6 points out of a maximum of 4.

Radiographic Findings

The result of the radiographic evaluation with the Rosenberg view did not show any narrowing when the

TABLE 2. Functional Outcomes Comparing Medial Versus Lateral Meniscal Transplantation

| | Total | Medial Meniscal Transplantation | Lateral Meniscal Transplantation | <i>P</i> Value |
|--------------|-----------------|---------------------------------|----------------------------------|----------------|
| Lysholm | 88.63 \pm 7.2 | 88.37 \pm 7.5 | 89 \pm 9.2 | .64 |
| Tegner | 5.54 \pm 2.15 | 5 \pm 1.53 | 6 \pm 2 | >.99 |
| VAS | 1.52 \pm 1.21 | 1.37 \pm 1.5 | 1.83 \pm 1.3 | .47 |
| Satisfaction | 3.6 | 3.5 | 3.75 | |

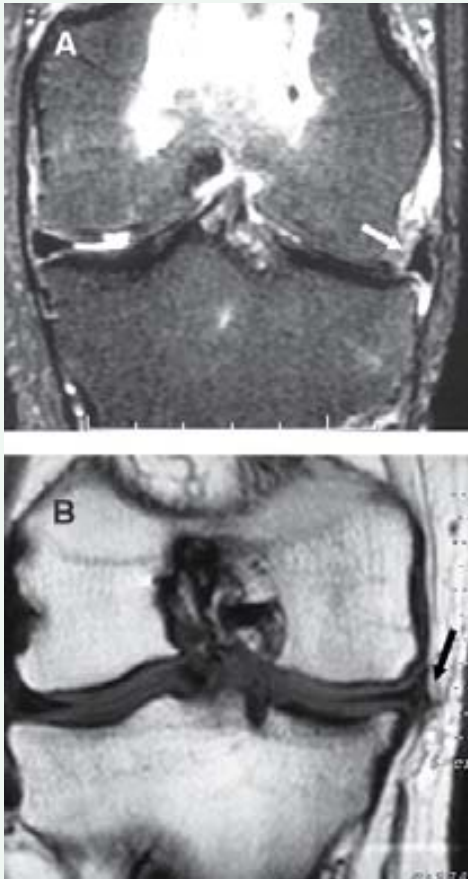


FIGURE 3. MRI coronal views of 2 knees after (A) lateral and (B) medial meniscal transplantation. A, Complete extrusion of the lateral allograft can be observed (white arrow). B, Partial extrusion of the transplanted meniscus behind the medial collateral ligament can be observed (black arrow).

joint space was analyzed (from 3.19 ± 1.23 mm preoperatively to 3.21 ± 1.96 mm at follow-up, $P = .38$).

The main findings on MRI were as follows. The entire transplanted meniscus was present in all cases except for the explanted. The volume of the transplanted meniscus was smaller than expected (although we could not record this because there was no meniscus for comparison). There was an altered signal, probably indicating ongoing remodeling, some degen-

eration, or both, as well as some degree of allograft extrusion, in all cases. Meniscal extrusion was a common finding in the whole series, with some degree in all grafts and a mean of $36.3\% \pm 13.7\%$ of total meniscal size (Fig 3). When analyzed by compartment, medial allografts showed $35.9\% \pm 18.1\%$ peripheral extrusion whereas lateral allografts showed $38.3\% \pm 14.4\%$ ($P = .84$).

Complications

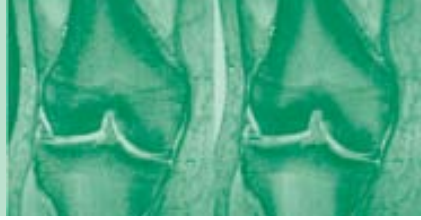
Complications included 2 cases of arthrofibrosis and 2 infections requiring arthroscopic arthrolysis and lavage plus specific antibiotic therapy over a period of 6 weeks, respectively. In all 4 cases the transplanted menisci looked viable and were kept in place.

In 7 patients (21.4%), a second surgery was necessary because of a graft tear. Four of them had later loss of allograft fixation requiring refixation. The allograft had to be completely removed in the remaining 3 cases (failure rate, 9%).

Therefore a total of 14 knees underwent second-look arthroscopy for different reasons at different time intervals. Only 11 of them (33% of the series) were because of allograft complications. In 11 of 14 revision surgeries, the allografts appeared to have completely or partially healed and been fixed to both the joint capsule and the insertion horns (Fig 4). Two cases showed severe shrinkage. One of them was of no clinical consequence.



FIGURE 4. Second-look arthroscopy in a patient with septic arthritis after MAT. There is a broken suture remaining at the anterior horn (arrow). The allograft was observed to have healed to the periphery by vascularized tissue.



DISCUSSION

The main finding of this study was that performing MAT in a patient with persistent compartmental joint line pain due to a previous meniscectomy improves knee function and provides a decrease in pain at least 5 years postoperatively.

In this series the graft fixation was done solely by use of sutures. We chose this method because of our previous experience using Collagen Meniscus Implants. Fixation without bone plugs is technically less demanding and allows easier matching to compartment size. It has been suggested that the use of multiple sutures in shorter tunnels enhances fixation by increasing implant stiffness and improving contact mechanics.¹⁵ Moreover, suture fixation provides a lower risk of eliciting an immunologic or antigenic response.²⁵

Several experimental studies have shown good healing of the transplanted allografts when the anterior and posterior horns are sutured without bone plug fixation.^{27,28} Hunt et al.²⁹ showed no differences between either of the techniques in terms of the mean pullout strength of the medial meniscal allograft with posterior horn fixation in a cadaveric model. It has even been reported that nonanatomic bony fixation may lead to enhanced articular cartilage degeneration.³⁰ There are also clinical studies in which satisfactory results have been obtained with suture fixation.^{11,31,32}

The allografts used in this series were fresh frozen (-80°C), the most commonly used preservation method in our environment. These are less likely to provoke an immune response. Nevertheless and in contrast to currently accepted knowledge, Gelber et al.³³ have recently shown that the freezing process alters the menisci's collagen net in terms of both the size and degree of disarray of the collagen fibril. These structural changes might deteriorate the allograft's functions and even lead to its shrinkage.

Allograft shrinkage is difficult to assess not only on MRI but also on second-look arthroscopy. Carter,³⁴ in 22 second-look surgeries, reported only 3 cases of size reduction. Milachowski et al.⁸ noted shrinkage of 33% to 66% in 14 of 23 menisci examined by arthroscopy after 8 months of follow-up. However, the latter series had used lyophilized allografts, and this preservation method is now accepted to constantly produce a decrease in allograft size. Although only 2 of 33 cases (6%) had clearly shrunken in our series, we believe that a significant number of transplants had a size inferior to that expected.

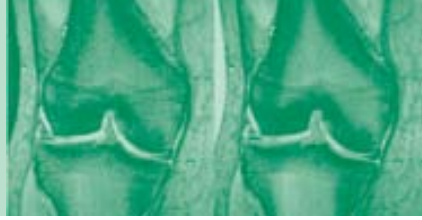
Most of the authors have found pain relief and functional improvement to be the main benefits of MAT, at least during the first years of follow-up.^{12,25,32,35-37} Our functional results also show an improvement after surgery in both Lysholm and Tegner scores as well as pain relief reflected by means of the VAS score at a minimum of 5 years' follow-up. Interestingly, these results are in agreement with those reported in the literature regardless of the type of implant or the fixation technique used.^{11,19,32}

In a recent clinical trial review,³⁸ the majority of published series providing outcome data had over 60% of their patients exhibiting a successful outcome. These were also our findings. However, favorable results were observed in 88% of cases in a selective analysis of the more recent studies. Potential causes for this improvement may include refinements in the selection of patients and graft processing and preparation, as well as in the surgical technique.³⁹

It has also been reported that lateral allografts yielded better functional scores than medial allografts.²⁵ This could be explained by the fact that the lateral meniscus transmits more of a load through the knee and so the lateral transplant should be more important in restoring knee biomechanics. This was in contrast to the functional results observed in our study, where lateral and medial meniscal transplantation scored similarly.

We found no deterioration in the joint line space in the affected compartment at the end of the follow-up. In fact, outcomes showed a slight widening of the space (0.02 mm), although this was statistically non-significant. Garrett⁴⁰ noted no progressive degeneration after 60 months of follow-up in a study with 15 cryopreserved allografts. Similar results were reported by Rath et al.,⁴¹ Van Arkel and De Boer,¹⁹ and Yoldas et al.⁴² On the other hand, Stollsteimer et al.⁴³ reported joint space narrowing of 0.88 mm in their series. However, the long-term effect of these allografts on the progression of osteoarthritis remains to be determined.

The most common complication reported in meniscal transplantation is retearing of the allografts. In a review of 15 series evaluating the clinical outcome of MAT, Matava³⁸ found a tear rate of 8.2%. Our series showed a tear rate of 21.4% (7 allografts) with repair in 4 cases and removal in the other 3. Therefore our allografts exhibited a failure rate of 9%. With regard to the complication rate, there seems to be a high range of variation in the literature, depending on what is considered a complication. In the aforementioned review of 15 MAT series published by Matava, the



MENISCAL TRANSPLANTATION AND MIDTERM RESULTS

1639

rate of reoperation ranges from not reported⁴⁰ to 26%.⁴³ However, if one examines some other complications, such as loss of motion, the rate ranges from 0% in several series to 11%.⁴⁴ In the case of infections, some series reached a rate of 4.5%⁸ whereas it was not reported in others. Overall, the rate of complications in our series can be considered high (33%). We consider allograft tears as complications, in addition to whatever factors obliged the surgeon to reoperate.

By use of the criteria of Van Arkel and De Boer,²⁵ which consider not only meniscal retention but also good knee function, our allografts' survival rate was 87.8% at a mean of 6.5 years postoperatively in consideration of the fact that 3 failures plus 1 worsening of function led to 28 good outcomes.

Meniscal extrusion is a known phenomenon in the natural history of degenerative knee joint disease. Theoretically, a meniscus well fixed at both the anterior and posterior horns is able to translate axial compression into circumferential efforts and thus does not extrude. However, recent evidence suggests that extrusion can also be seen in normal knees.²⁶ With regard to the transplanted knees, to our knowledge, only 2 reports have focused on extrusion. Verdonk et al.³⁵ compared the extrusion of 10 lateral allografts with 10 normal knees by means of MRI as well as ultrasonography. They found all the transplanted menisci without bone block fixation but with firm fixation of the horns to the original sites extruding in the lateral direction significantly more than the normal meniscus. This extrusion does not increase with axial load. More recently, Lee et al.⁴⁵ also showed that the extruded allograft tends to be stable over the long term and clinically seems to be irrelevant. In our series all allograft menisci showed some degree of extrusion. With regard to the global allograft size, our allografts were extruded some 36.3%. This high percentage of extrusion can be related to the type of fixation used. Even though no clinical correlation has been found, this and some other issues caused us to consider other fixation systems.

The main limitation of this work of course is that, though prospective, the study was not randomized and had no control group. However, we have to mention that when using a meniscal allograft, it is very difficult to find the right control group (osteotomies, unicompartmental knee replacements, total knee replacements). If a total knee replacement is to be used as a comparison, its results in young persons are very limited and the need for further surgeries is a certainty as time passes.

These results suggest that this procedure appears to be a useful option in selected symptomatic individuals. After surgery, these patients might expect some pain relief and an increase in their activity level that remains unchanged over a mean of 6.5 years, which confirmed our hypothesis. However, a reoperation rate of more than 30% seems to be excessive for such a benign procedure, even though the learning curve has to be taken into account.

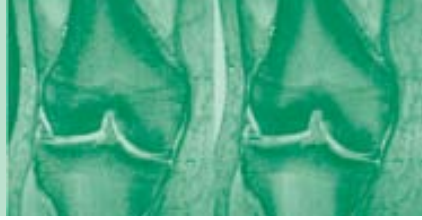
CONCLUSIONS

This study suggests that MAT performed in the manner we describe provides significant pain relief and functional improvement in selected symptomatic individuals on a midterm basis. However, there was a high rate of complications (33%) and revision surgery.

Acknowledgment: The authors thank Eric Goode for help with the preparation of the manuscript.

REFERENCES

1. King D. The function of semilunar cartilages. *J Bone Joint Surg Am* 1936;18:1069.
2. Fairbank TJ. Knee joint changes after meniscectomy. *J Bone Joint Surg Br* 1948;30:664-670.
3. Jackson JP. Degenerative changes in the knee after meniscectomy. *BMJ* 1968;2:525-527.
4. Tapper EM, Hoover NW. Late results after meniscectomy. *J Bone Joint Surg Am* 1969;51:517-526.
5. Lanzer WL, Komenda G. Changes in articular cartilage after meniscectomy. *Clin Orthop Relat Res* 1990;41-48.
6. Krause WR, Pope MH, Johnson RJ, Wilder DG. Mechanical changes in the knee after meniscectomy. *J Bone Joint Surg Am* 1976;58:599-604.
7. Kurosawa H, Fukubayashi T, Nakajima H. Load-bearing mode of the knee joint. *Clin Orthop Relat Res* 1980;283-290.
8. Milachowski K, Weismeier K, Wirth C. Homologous meniscus transplantation: Experimental and clinical results. *Int Orthop* 1989;13:1-11.
9. Zukor DJ, Cameron JC, Brooks PJ, et al. The fate of human meniscal allografts. In: Ewing JW, ed. *Articular cartilage and knee joint function: Basic science and arthroscopy*. New York: Raven Press, 1990;147-152.
10. Loch RC, Gross AE, Langer F. Late osteochondral resurfacing for tibial plateau fractures. *J Bone Joint Surg Am* 1984;66:328-335.
11. Wirth CJ, Peters G, Milachowski KA, Weismeier KG, Kohn D. Long-term results of meniscal allograft transplantation. *Am J Sports Med* 2002;30:174-181.
12. Verdonk PCM, Verstraete KL, Almqvist KF, et al. Meniscal allograft transplantation: Long-term clinical results with radiological and magnetic resonance imaging correlations. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2006;14:694-706.
13. Van der Wal RJP, Thomassen BJW, Van Arkel ERA. Long-term clinical outcome of open meniscal allograft transplantation. *Am J Sports Med* 2009;37:2134-2139.
14. Rijk PC. Meniscal allograft transplantation. Part I: Background, results, graft selection and preservation, and surgical considerations. *Arthroscopy* 2004;20:728-743.

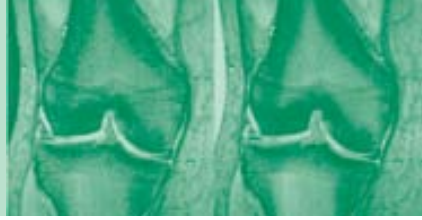


INDICE

1640

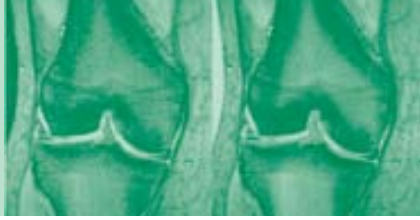
G. GONZÁLEZ-LUCENA ET AL.

15. Alhaki MM, Howell SM, Hull ML. How three methods for fixing a medial meniscal allograft affect tibial contact mechanics. *Am J Sports Med* 1999;27:320-328.
16. Chen MI, Branch TP, Hutton WC. Is it important to secure the horns during lateral meniscal transplantation? A cadaveric study. *Arthroscopy* 1996;12:174-181.
17. Paletta GA, Manning T, Snell, et al. The effect of allograft meniscal replacement on intraarticular contact area and pressures in the human knee. A biomechanical study. *Am J Sports Med* 1997;25:692-698.
18. McDermott I, Lie D, Edwards A, Bull A, Amis A. The effects of lateral meniscal allograft transplantation techniques on tibio-femoral contact pressures. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2008;16:553-560.
19. Van Arkel ERA, De Boer HH. Human meniscal transplantation: Preliminary results at 2 to 5-year follow-up. *J Bone Joint Surg Br* 1995;77:589-595.
20. Verdonk R. Alternative treatment for meniscal injuries. *J Bone Joint Surg Br* 1999;79:866-873.
21. Cummins JF, Mansour JN, Howe Z, Allan DG. Meniscal transplantation and degenerative articular change: An experimental study in the rabbit. *Arthroscopy* 1997;13:485-491.
22. Canham W, Stanish W. A study of the biological behavior of the meniscus as a transplant in the medial compartment of a dog's knee. *Am J Sports Med* 1986;14:376-379.
23. Pollard ME, Kang Q, Berg EE. Radiographic sizing for meniscal transplantation. *Arthroscopy* 1995;11:684-687.
24. Tegner Y, Lysholm J. Rating systems in the evaluation of knee ligament injuries. *Clin Orthop Relat Res* 1985;43-49.
25. Van Arkel ERA, De Boer HH. Survival analysis of human meniscal transplantations. *J Bone Joint Surg Br* 2002;84:227-231.
26. Puig LI, Monllau JC, Corrales M, Pelfort X, Melendo E, Cáceres E. Factors affecting meniscal extrusion: Correlation with MRI, clinical and arthroscopic findings. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2006;14:394-398.
27. Rijk PC, Van Noorden CJF. Structural analysis of meniscal allografts after immediate and delayed transplantation in rabbits. *Arthroscopy* 2002;18:995-1001.
28. Elliott DM, Jones R, Setton LA, Scully SP, Vail TP, Guilak F. Joint degeneration following meniscal allograft transplantation in a canine model: Mechanical properties and semiquantitative histology of articular cartilage. *Knee Sports Traumatol Arthrosc* 2002;10:109-118.
29. Hunt S, Kaplan K, Ishak C, Kummer FJ, Meislin E. Bone plug versus suture fixation of the posterior horn in medial meniscal allograft transplantation: A biomechanical study. *Bull NYU Hosp Jt Dis* 2008;66:22-26.
30. Von Lewinski G, Kohn D, Wirth CJ, Lazovic D. The influence of nonanatomical insertion and incongruence of meniscal transplants on the articular cartilage in an ovine model. *Am J Sports Med* 2008;36:841-850.
31. Cameron JC, Saha S. Meniscal allograft transplantation for unicompartmental arthritis of the knee. *Clin Orthop Relat Res* 1997;164-171.
32. Sekiya JK, West RV, Groff YJ, Irrgang JJ, Fu FH, Harner CD. Clinical outcomes following isolated lateral meniscal allograft transplantation. *Arthroscopy* 2006;22:771-780.
33. Gelber PE, Gonzalez G, Lloreta J, Reina F, Cáceres E, Monllau JC. Freezing causes changes in the meniscus collagen net. A new ultrastructural meniscus disarray scale. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2008;16:353-359.
34. Carter TR. Meniscal allograft transplantation. *Sports Med Arthrosc Rev* 1999;7:51-62.
35. Verdonk P, Depaepe Y, Desmyter S, et al. Normal and transplanted lateral knee menisci: Evaluation of extrusion using magnetic resonance imaging and ultrasound. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2004;12:411-419.
36. Verdonk PCM, Demurie A, Almqvist KF, Veys EM, Verbruggen G, Verdonk R. Transplantation of viable meniscal allograft. *J Bone Joint Surg Am* 2005;87:715-724.
37. Cole BJ, Dennis MG, Lee SJ, et al. Prospective evaluation of allograft meniscus transplantation. A minimum 2-year follow-up. *Am J Sports Med* 2006;34:919-927.
38. Matava MJ. Meniscal allograft transplantation: A systematic review. *Clin Orthop Relat Res* 2007;455:142-157.
39. Lubowitz JH, Verdonk PCM, Reid JB, Verdonk R. Meniscus allograft transplantation: A current concepts review. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2007;15:476-492.
40. Garrett JC. Meniscal transplantation: A review of 43 cases with 2- to 7-year follow-up. *Sports Med Arthrosc Rev* 1993;1:164-167.
41. Rath E, Richmond JC, Yassir W, Albright JD, Gundogan F. Meniscal allograft transplantation. Two- to eight-year results. *Am J Sports Med* 2001;29:410-414.
42. Yoldas EA, Sekiya JK, Irrgang JJ, Fu FH, Harner CD. Arthroscopically assisted meniscal allograft transplantation with and without combined anterior cruciate ligament reconstruction. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2003;11:173-182.
43. Stollsteimer GT, Shelton WR, Dukes A, Bomboy AL. Meniscal allograft transplantation: A 1- to 5-year follow-up of 22 patients. *Arthroscopy* 2000;16:343-347.
44. Noyes F, Barber-Westin S, Rankin M. Meniscal transplantation in symptomatic patients less than fifty years old. *J Bone Joint Surg Am* 2004;86:1392-1404.
45. Lee DH, Kim TH, Lee SH, Kim CW, Kim JM, Bin SI. Evaluation of meniscus allograft transplantation with serial magnetic resonance imaging during the first postoperative year: Focus on graft extrusion. *Arthroscopy* 2008;24:1115-1121.



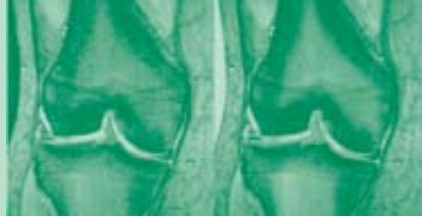
BIBLIOGRAFÍA

1. Milachowski KA, Weismeier K, Wirth CJ. Homologous meniscus transplantation. Experimental and clinical results. *Int Orthop*. 1989;13(1):1-11.
2. Carter T. Meniscal allograft transplantation. *Sports Med Arthrosc Rev*. 1999 Feb. 5;7:51-62.
3. Arnoczky S, Warren R, McDevitt C. Meniscal Replacement Using a Cryopreserved Allograft. *Clin Orthop*. 1990 Jun. 30;337:164-171.
4. Cameron JC, Saha S. Meniscal allograft transplantation for unicompartamental arthritis of the knee. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 1997 Apr.;(337):164-171.
5. Cummins JF, Mansour JN, Howe Z, Allan DG. Meniscal transplantation and degenerative articular change: an experimental study in the rabbit. *YJARS*. 1997 Aug.;13(4):485-491.
6. Jackson DW, McDevitt CA, Simon TM, Arnoczky SP, Atwell EA, Silvino NJ. Meniscal transplantation using fresh and cryopreserved allografts. An experimental study in goats. *The American Journal of Sports Medicine*. 1992 Oct.;20(6):644-656.
7. van Arkel ER, de Boer HH. Human meniscal transplantation. Preliminary results at 2 to 5-year follow-up. *J Bone Joint Surg Br*. 1995 Jul.;77(4):589-595.
8. Gelber P, Reina F, Cáceres E, Monllau J. Meniscos de la rodilla. Relaciones entre anatomía y función mecánica. *Cuadernos de Artroscopia*. 2007 Feb. 5;30:8-14.
9. Kurosawa H, Fukubayashi T, Nakajima H. Load-bearing mode of the knee joint: physical behavior of the knee joint with or without menisci. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 1980 Jun.;(149):283-290.
10. King D. The function of semilunar cartilages. *J Bone Joint Surg Am*. 1936 Feb. 5;18:1069.



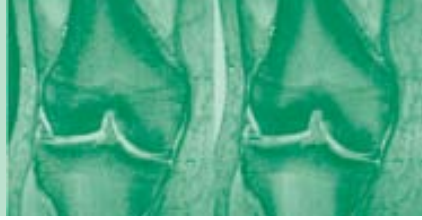
BIBLIOGRAFÍA

11. FAIRBANK TJ. Knee joint changes after meniscectomy. *J Bone Joint Surg Br.* 1948 Nov.;30B(4):664–670.
12. Shoemaker SC, Markolf KL. The role of the meniscus in the anterior-posterior stability of the loaded anterior cruciate-deficient knee. Effects of partial versus total excision. *J Bone Joint Surg Am.* 1986 Jan.;68(1):71–79.
13. Arnoczky SP, Warren RF. Microvasculature of the human meniscus. *The American Journal of Sports Medicine.* 1982 Feb.;10(2):90–95.
14. Jackson J. Degenerative changes in the knee after meniscectomy. *Br Med J.* 1968 Feb. 5;2:525–527.
15. EM T, Hoover N. Late results after meniscectomy. *J Bone Joint Surg Am.* 1969 Feb. 5;51:517–526.
16. Lanzer W, Komenda G. Changes in articular cartilage after meniscectomy. *Clinical Orthopaedics.* 1990 Feb. 5;252:41–48.
17. Krause W, Pope M, Johnson R, al E. Mechanical changes in the knee after meniscectomy. *J Bone Joint Surg Am.* 1976 Feb. 5;58:599–604.
18. Seedhom B, Hargreaves D. Transmission of load in the knee joint with especial reference to the role of menisci, part II: experimental results, discussions, and conclusions. *Eng Med Biol.* 1979 Feb. 5;8:220–228.
19. Zukor D, Cameron J, Brooks P, al. The fate of human meniscal allografts. Ewing J, editor. *Articular cartilage and knee joint function: basic science and arthroscopy.* New York; 1990 Feb. 5;:147.
20. Locht RC, Gross AE, Langer F. Late osteochondral allograft resurfacing for tibial plateau fractures. *J Bone Joint Surg Am.* 1984 Mar.;66(3):328–335.



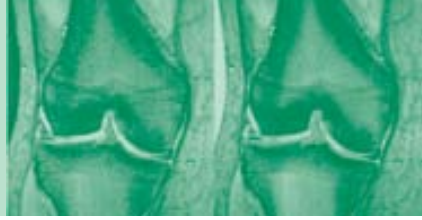
BIBLIOGRAFÍA

21. Wirth CJ, Peters G, Milachowski KA, Weismeier KG, Kohn D. Long-term results of meniscal allograft transplantation. *The American Journal of Sports Medicine*. 2002 Feb.;30(2):174–181.
22. Verdonk PCM, Verstraete KL, Almqvist KF, Cuyper K, Veys EM, Verbruggen G, et al. Meniscal allograft transplantation: long-term clinical results with radiological and magnetic resonance imaging correlations. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2006 Feb. 7;14(8):694–706.
23. Stone KR, Walgenbach AW, Turek TJ, Freyer A, Hill MD. Meniscus Allograft Survival in Patients with Moderate to Severe Unicompartamental Arthritis: A 2- to 7-Year Follow-up. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery*. 2006 May;22(5):469–478.
24. Brown KL, Cruess RL. Bone and cartilage transplantation in orthopaedic surgery. A review. *J Bone Joint Surg Am*. 1982 Feb.;64(2):270–279.
25. Milachowski KA, Weismeier K, Erhardt W, Remberger K. [Meniscus transplantation–animal experiment study]. *Sportverletz Sportschaden*. 1987 Apr.;1(1):20–24.
26. Milachowski KA, Kohn D, Wirth CJ. [Transplantation of allogeneic menisci]. *Orthopade*. 1994 Apr.;23(2):160–163.
27. Weismeier K, Wirth CJ, Milachowski KA. [Transplantation of the meniscus. Experimental study]. *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot*. 1988;74(2):155–159.
28. Garrett JC, Steensen RN, Stevensen RN. Meniscal transplantation in the human knee: a preliminary report. *YJARS*. 1991;7(1):57–62.
29. Canham W, Stanish W. A study of the biological behavior of the meniscus as a transplant in the medial compartment of a dog's knee. *The American Journal of Sports Medicine*. 1986 Aug.;14(5):376–379.



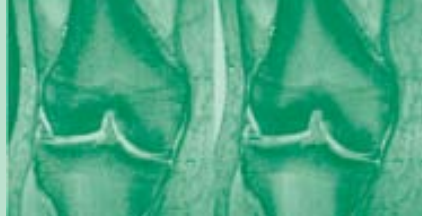
BIBLIOGRAFÍA

30. Powers DL, Davenport ME, Wisnewski PJ. Glutaraldehyde-cross-linked meniscal allografts: clinical, gross, and histological results. *J Invest Surg.* 1988;1(4):249–257.
31. Jackson D, Simon T. Biology of meniscal allograft. Mow V, Arnoczky S, Jackson D, editors. *Knee meniscus: Basic and Clinical foundations.* New York; 1992 Feb. 5;:141–152.
32. Khun J, Wojtys E. Allograft meniscal transplantation. *Clin Sports Med.* 1996 Feb. 5;15:537–556.
33. Arnoczky SP, McDevitt CA, Schmidt MB, Mow VC, Warren RF. The effect of cryopreservation on canine menisci: a biochemical, morphologic, and biomechanical evaluation. *J. Orthop. Res.* 1988;6(1):1–12.
34. Fabbriciani C, Lucania L, Milano G, Schiavone Panni A, Evangelisti M. Meniscal allografts: cryopreservation vs deep-frozen technique. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 1997 Jun. 5;5:124–134.
35. Verdonk R. Alternative treatments for meniscal injuries. *J Bone Joint Surg Br.* 1997 Sep.;79(5):866–873.
36. Arnoczky S, Milachowski K. Meniscal allografts: where do we stand? Ewing J, editor. *Articular cartilage and the knee joint function. Basic science in arthroscopy.* New York; 1990 Feb. 5;:129–136.
37. Siegel MG, Roberts CS. Meniscal allografts. *Clin Sports Med.* 1993 Jan.;12(1):59–80.
38. Black J, Shadle CA, Parsons JR, Brighton CT. Articular cartilage preservation and storage. II. Mechanical indentation testing of viable, stored articular cartilage. *Arthritis Rheum.* 1979 Oct.;22(10):1102–1108.
39. Brighton CT, Shadle CA, Jimenez SA, Irwin JT, Lane JM, Lipton M. Articular cartilage preservation and storage. I. Application of tissue culture techniques to the storage of viable articular cartilage. *Arthritis Rheum.* 1979 Oct.;22(10):1093–1101.



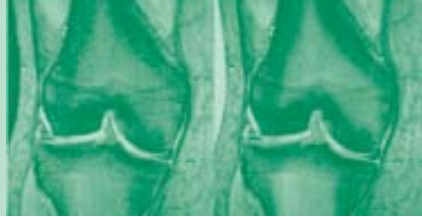
BIBLIOGRAFÍA

40. Garrett J. Meniscal transplantation. Aichroth P, Canon W, Patel D, editors. *Knee surgery: Current practice*. New York; 1992 Feb. 5;:95–103.
41. Jackson DW, Whelan J, Simon TM. Cell survival after transplantation of fresh meniscal allografts. DNA probe analysis in a goat model. *The American Journal of Sports Medicine*. 1993 Jun.;21(4):540–550.
42. Debeer P, Decorte R, Delvaux S, Bellemans J. DNA analysis of a transplanted cryopreserved meniscal allograft. *YJARS*. 2000;16(1):71–75.
43. Elves MW. A study of the transplantation antigens on chondrocytes from articular cartilage. *J Bone Joint Surg Br*. 1974 Feb.;56(1):178–185.
44. de Boer HH, Koudstaal J. The fate of meniscus cartilage after transplantation of cryopreserved nontissue-antigen-matched allograft. A case report. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 1991 May;(266):145–151.
45. Hamlet W, Liu SH, Yang R. Destruction of a cryopreserved meniscal allograft: a case for acute rejection. *YJARS*. 1997 Aug.;13(4):517–521.
46. Wada Y. Meniscal transplantation using fresh and cryopreserved allografts—an experimental study in the genetically defined rat. *Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi*. 1993 Jul.;67(7):677–683.
47. Rijk PC, Van Noorden CJF. Structural analysis of meniscal allografts after immediate and delayed transplantation in rabbits. *Arthroscopy*. 2002 Oct.;18(9):995–1001.
48. Ochi M, Ishida O, Daisaku H, Ikuta Y, Akiyama M. Immune response to fresh meniscal allografts in mice. *J. Surg. Res*. 1995 May;58(5):478–484.



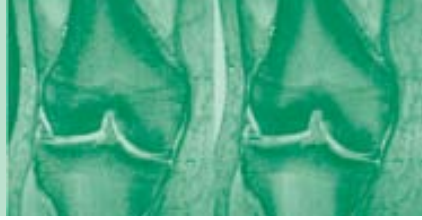
BIBLIOGRAFÍA

49. Khoury MA, Goldberg VM, Stevenson S. Demonstration of HLA and ABH antigens in fresh and frozen human menisci by immunohistochemistry. *J. Orthop. Res.* 1994 Nov.;12(6):751–757.
50. van Arkel ER, van den Berg-Loonen EM, van Wersch JW, de Boer HH. Human leukocyte antigen sensitization after cryopreserved human meniscal transplantations. *Transplantation.* 1997 Aug. 15;64(3):531–533.
51. Rodeo SA, Seneviratne A, Suzuki K, Felker K, Wickiewicz TL, Warren RF. Histological analysis of human meniscal allografts. A preliminary report. *J Bone Joint Surg Am.* 2000 Aug.;82-A(8):1071–1082.
52. Bos GD, Goldberg VM, Zika JM, Heiple KG, Powell AE. Immune responses of rats to frozen bone allografts. *J Bone Joint Surg Am.* 1983 Feb.;65(2):239–246.
53. Stevenson S. The immune response to osteochondral allografts in dogs. *J Bone Joint Surg Am.* 1987 Apr.;69(4):573–582.
54. Krackow KA, Thomas SC, Jones LC. A new stitch for ligament-tendon fixation. Brief note. *J Bone Joint Surg Am.* 1986 Jun.;68(5):764–766.
55. Lewis PB, Williams JM, Hallab N, Viridi A, Yanke A, Cole BJ. Multiple freeze-thaw cycled meniscal allograft tissue: A biomechanical, biochemical, and histologic analysis. *J. Orthop. Res.* 2008 Jan.;26(1):49–55.
56. Aagaard H, Jörgensen U, Bojsen-Möller F. Reduced degenerative articular cartilage changes after meniscal allograft transplantation in sheep. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 1999;7(3):184–191.
57. Sekiya J, Ellingson C. Meniscal allograft transplantation. *J Am Acad Orthop Surg.* 2006 Feb. 5;14:164–174.
58. Ochi M, Kanda T, Sumen Y, Ikuta Y. Changes in the permeability and histologic findings of rabbit menisci after immobilization. *Clinical Orthopaedics and Related Research.* 1997 Jan.;(334):305–315.



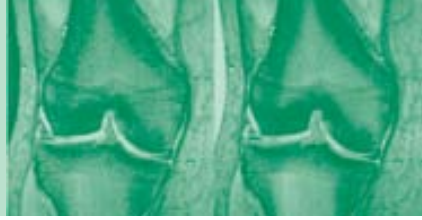
BIBLIOGRAFÍA

59. Arnoczky SP, DiCarlo EF, O'Brien SJ, Warren RF. Cellular repopulation of deep-frozen meniscal autografts: an experimental study in the dog. *YJARS*. 1992;8(4):428–436.
60. Salai M, Givon U, Messer Y, Versen von R. Electron microscopic study on the effects of different preservation methods for meniscal cartilage. *Ann Transplant*. 1997 Feb. 5;2:52–54.
61. Verdonk R, Khon D. Harvest and conservation of meniscal allografts. *Scand J Med Sci Sports*. 1999 Feb. 5;9:158–159.
62. Alhalki MM, Howell SM, Hull ML. How three methods for fixing a medial meniscal autograft affect tibial contact mechanics. *The American Journal of Sports Medicine*. 1999 Apr.;27(3):320–328.
63. Chen MI, Branch TP, Hutton WC. Is it important to secure the horns during lateral meniscal transplantation? A cadaveric study. *YJARS*. 1996 Apr.;12(2):174–181.
64. Paletta GA, Manning T, Snell E, Parker R, Bergfeld J. The effect of allograft meniscal replacement on intraarticular contact area and pressures in the human knee. A biomechanical study. *The American Journal of Sports Medicine*. 1997 Aug.;25(5):692–698.
65. Elliott DM, Jones R, Setton LA, Scully SP, Vail TP, Guilak F. Joint degeneration following meniscal allograft transplantation in a canine model: mechanical properties and semiquantitative histology of articular cartilage. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2002 Mar.;10(2):109–118.
66. Hunt S, Kaplan K, Ishak C, Kummer FJ, Meislin R. Bone plug versus suture fixation of the posterior horn in medial meniscal allograft transplantation: a biomechanical study. *Bull NYU Hosp Jt Dis*. 2008;66(1):22–26.
67. Lewinski Von G, Kohn D, Wirth C, Lazovic D. The influence of nonanatomical insertion and incongruence of meniscal transplants on the articular cartilage in an ovine model. *Am J Sports Med*. 2008 Feb. 5;36:841–850.



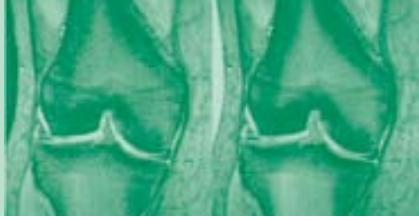
BIBLIOGRAFÍA

68. McDermott ID, Lie DTT, Edwards A, Bull AMJ, Amis AA. The effects of lateral meniscal allograft transplantation techniques on tibio-femoral contact pressures. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2008 Jun.;16(6):553–560.
69. Sekiya JK, West RV, Groff YJ, Irrgang JJ, Fu FH, Harner CD. Clinical Outcomes Following Isolated Lateral Meniscal Allograft Transplantation. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery.* 2006 Jul.;22(7):771–780.
70. van Arkel ERA, de Boer HH. Survival analysis of human meniscal transplantations. *J Bone Joint Surg Br.* 2002 Mar.;84(2):227–231.
71. Verdonk P, Depaeppe Y, Desmyter S, Muynck M, Almqvist K, Verstraete K, et al. Normal and transplanted lateral knee menisci: evaluation of extrusion using magnetic resonance imaging and ultrasound. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2004 May 14;12(5).
72. Verdonk PCM, Demurie A, Almqvist KF, Veys EM, Verbruggen G, Verdonk R. Transplantation of viable meniscal allograft. Survivorship analysis and clinical outcome of one hundred cases. *J Bone Joint Surg Am.* 2005 Apr.;87(4):715–724.
73. Cole BJ. Prospective Evaluation of Allograft Meniscus Transplantation: A Minimum 2-Year Follow-up. *The American Journal of Sports Medicine.* 2006 Feb. 1;34(6):919–927.
74. Matava MJ. Meniscal Allograft Transplantation. *Clinical Orthopaedics and Related Research.* 2007 Feb.;455:142–157.
75. Lubowitz JH, Verdonk PCM, Reid JB, Verdonk R. Meniscus allograft transplantation: a current concepts review. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2007 May;15(5):476–492.
76. Hergan D, Thut D, Sherman O, Day MS. Meniscal Allograft Transplantation. *YJARS.* Elsevier Inc.; 2011 Jan. 1;27(1):101–112.



BIBLIOGRAFÍA

77. Garrett J. Meniscal transplantation: a review of 43 cases with 2- to 7-year follow-up. *Sports Med Arthrosc Rev.* 1993 Feb. 5;1:164–167.
78. Rath E, Richmond JC, Yassir W, Albright JD, Gundogan F. Meniscal allograft transplantation. Two- to eight-year results. *The American Journal of Sports Medicine.* 2001 Jun.;29(4):410–414.
79. Yoldas E, Sekiya J, Irrgang J, Fu F, Harner C. Arthroscopically assisted meniscal allograft transplantation with and without combined anterior cruciate ligament reconstruction. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2003 May 16;11:173–182.
80. Stollsteimer GT, Shelton WR, Dukes A, Bomboy AL. Meniscal allograft transplantation: a 1- to 5-year follow-up of 22 patients. *YJARS.* 2000 Apr.;16(4):343–347.
81. Lee D-H, Kim T-H, Lee S-H, Kim C-W, Kim J-M, Bin S-I. Evaluation of meniscus allograft transplantation with serial magnetic resonance imaging during the first postoperative year: focus on graft extrusion. *Arthroscopy.* 2008 Oct.;24(10):1115–1121.
82. Ha JK, Shim JC, Kim DW, Lee YS, Ra HJ, Kim JG. Relationship Between Meniscal Extrusion and Various Clinical Findings After Meniscus Allograft Transplantation. *The American Journal of Sports Medicine.* 2010 Dec. 1;38(12):2448–2455.



APÉNDICES

1. ESCALA FUNCIONAL DE LYSHOLM

Escala de puntuación de la rodilla según Lysholm

El paciente debe completar este formulario

INSTRUCCIONES: Marque el recuadro apropiado en cada categoría para indicar cómo está su rodilla en la actualidad. Elija sólo una respuesta por categoría, la que mejor se ajuste a la realidad. Si tiene algún comentario, solicite un formulario de comentarios a su médico o coordinador del análisis de posventa. Por favor no escriba en los márgenes.

1 Cojera

- Ninguna
- Ligera o periódica
- Severa y constante

2 Utilización de muletas

- Ninguna
- Bastón o muletas
- Imposible soportar el peso

3 Bloqueo

- No hay sensación de bloqueo ni de estar trabado
- Sensación de estar trabado pero no hay bloqueo
- Bloqueo ocasional
- Bloqueo frecuente
- Articulación bloqueada al examinarse

4 Inestabilidad

- Nunca cede
- Rara vez durante pruebas atléticas u otros esfuerzos severos
- Frecuentemente durante pruebas atléticas u otros esfuerzos severos (o incapacidad de participar)
- Ocasionalmente en las actividades diarias
- Frecuentemente en las actividades diarias
- A cada paso

5 Dolor

- Ninguno
- No constante y ligero durante ejercicios fuertes
- Marcado durante ejercicios fuertes
- Marcado al caminar o después de caminar más de 2 kilómetros
- Marcado al caminar o después de caminar menos de 2 kilómetros
- Constante

6 Hinchazón

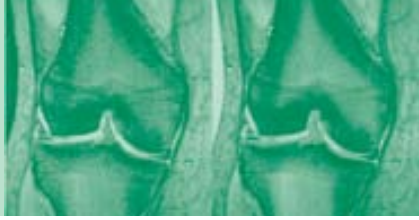
- Ninguno
- Al hacer esfuerzos severos
- Al hacer esfuerzos comunes
- Constante

7 Cuchillas

- Sin problemas
- Ligeramente perjudicado
- No más allá de 90°
- Imposible realizarlo

8 Al subir escaleras

- Sin problemas
- Ligeramente perjudicado
- De una en una
- Imposible realizarlo



APÉNDICES

1. 2. ESCALA DE ACTIVIDAD DE TEGNER

Nivel de actividad según Tegner

El paciente debe completar este formulario

INSTRUCCIONES: Revise las categorías numeradas de nivel de actividad (0 a 10) e indique su nivel de actividad actual de su lesión, anotando el número que corresponda en los recuadros de la esquina inferior derecha de este formulario. Si encuentra que sus actividades actuales pueden encontrarse en más de una categoría numerada, indique el número mayor. Si tiene algún comentario, solicite un formulario de comentarios a su médico o coordinador del análisis de posventa. Por favor no escriba en los márgenes.

10**Deportes de competición**

Fútbol (de élite nacional e internacional)

9**Deportes de competición**

Fútbol (categorías inferiores)

Hockey sobre hielo

Lucha libre

Gimnasia

8**Deportes de competición**

Bandy

Squash

Bádminton

Atletismo (saltos, etc.)

Esquí alpino

7**Deportes de competición**

Atletismo (carreras)

Tenis

Motocross en pista rápida

Balonmano

Baloncesto

Carreras en pista campo a través

Deportes de ocio

Bandy

Hockey sobre hielo

Fútbol

Squash

Atletismo (saltos)

Carreras en pista campo a través

6**Deportes de ocio**

Tenis

Bádminton

Balonmano

Baloncesto

Esquí alpino

Correr (al menos 5 veces por semana)

5**Trabajo**

Trabajos duros (por ejemplo, construcción, agricultura)

Deportes de competición

Ciclismo

Esquí campo a través

Deportes de ocio

Correr en terreno irregular (al menos dos veces por semana)

4**Trabajo**

Trabajos no muy duros (por ejemplo, conducción de camiones, trabajo pesado doméstico)

Deportes de ocio

Ciclismo

Esquí campo a través

Correr en terreno liso (al menos dos veces por semana)

3**Trabajo**

Trabajo ligero (por ejemplo enfermero)

Deportes de competición

Natación

Deportes de ocio

Natación

Caminar por montes accesibles (senderismo, excursionismo)

2**Trabajo**

Trabajo ligero

Posibilidad de caminar por terreno irregular pero

imposible caminar por el monte (imposible hacer senderismo ni excursionismo)

1**Trabajo**

Trabajo sedentario

Posibilidad de caminar en terreno liso

0**Baja por enfermedad o discapacidad debido a la lesión de la rodilla**

Nivel de actividad actual