

# Fenómenos reparativos en la zona avascular meniscal

I. Guisasola\*, F. Forriol\*\*, J. Vaquero\*\*\*

\*Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología.

Hospital Comarcal del Bidasoa, Hondarribia, Guipúzcoa.

\*\*Laboratorio de Biomecánica. Clínica Universitaria de Navarra, Pamplona.

\*\*\*Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología.

Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid.

## Correspondencia:

Dr. I. Guisasola

Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología

Hospital Comarcal del Bidasoa

Finca Zubieta, Bº Mendielu

20280 Hondarribia, Guipúzcoa.

Se ha estudiado la reparación meniscal (a 3 y 6 semanas) en lesiones longitudinales de la zona avascular del cuerpo del menisco. En todos los casos permaneció un espacio libre entre los bordes de la lesión sin que la vascularización periférica progrese hasta la zona de la lesión, aunque se apreció la penetración de pequeños vasos y un aumento de la vascularización en la zona periférica, orientándose hacia la zona de la lesión. En el canal de la sutura se objetivó una respuesta celular proliferativa, con un infiltrado abundante. La reparación de una lesión meniscal en la zona avascular, tratada con sutura, proporciona un aumento de la estabilidad, y los canales de la sutura constituyen una vía de entrada de células pluripotenciales. Esto posibilita el desarrollo de técnicas reparadoras.

**Palabras clave:** Reparación meniscal, zona avascular, histología, inmunohistoquímica.

**Reparation phenomena in the avascular zone of the meniscus.** The repair phenomena in longitudinal lesions of the avascular zone of the meniscal body were studied after 3 and 6 weeks. In all cases a free space persisted between the edges of the lesion and the peripheral vascularisation did not progress into the lesional area, although small-vessel penetration and increased vascularisation were observed in the peripheral area with orientation towards the lesional zone. A proliferative cell response with marked infiltration was seen in the suture channel. The repair of a meniscal lesion in the avascular zone with the help of sutures provides increased stability, and the suture channels represent an entry port for pluripotential cells. This renders it possible to develop repair techniques.

**Key words:** Meniscal repair, avascular zone, histology, immunohistochemistry.



**L**a función de los meniscos ha sido despreciada durante varios siglos hasta el punto de que Sutton, en 1897, los describió como "reliquias musculares de la pierna", lo que provocó frecuentes meniscectomías sin remordimientos frente a las repercusiones futuras. Hace poco más de medio siglo King<sup>(1)</sup> y, sobre todo, Fairbank<sup>(2)</sup> resaltaron la importancia de

los meniscos en la mecánica de la rodilla y apuntaron los cambios degenerativos inducidos por su ausencia. Este fue el punto de partida de numerosos estudios de laboratorio que han cambiado profundamente nuestra filosofía sobre estas importantes estructuras, que hoy intentamos preservar por todos los medios. Hace más de 100 años que Annadale reparó por primera

vez un menisco, pero esta idea no fue seguida por sus sucesores. En nuestro país, Cabot<sup>(3)</sup> en 1951, escribe en su tratado sobre la *Traumatología de los meniscos*: "Como ha comprobado Vogeler en una serie de casos, la sutura del menisco se halla siempre condenada al fracaso. La cicatrización de la ruptura depende, fundamentalmente, de sus condiciones vasculares, y siendo así que las rupturas suelen ocurrir en la zona central o avascular, no existen probabilidades de reparación a pesar de la más cuidadosa de las suturas. El único tratamiento racional y efectivo de las rupturas de menisco es la extirpación del fibrocartilago".

Ha sido en los últimas décadas, después de que varios trabajos experimentales demostraran la capacidad de cicatrización que tiene el menisco en la periferia<sup>(4,5)</sup>, cuando se han empezado a suturar las desinserciones periféricas por cirugía abierta<sup>(6)</sup> o por artroscopia<sup>(7,8)</sup> y los buenos resultados obtenidos han animado a adentrarse en la reparación de la zona avascular, donde tradicionalmente se ha aceptado la ausencia de fenómenos reparativos.

Dada la escasez de trabajos experimentales sobre los acontecimientos histológicos en estas circunstancias, hemos estudiado los fenómenos histológicos que ocurren en el seno del tejido meniscal tras una lesión longitudinal en su zona media avascular.

## MATERIAL Y MÉTODO

Elegimos la oveja (*Ovis aries*) como animal de experimentación empleando seis corderos de tres a cuatro meses de edad y con un peso medio de 30-35 kg. El estudio se llevó a cabo en la rodilla izquierda del animal.

La inducción anestésica se realizó con Tiopental<sup>®</sup>, 10 mg/kg; Ketamina<sup>®</sup>, 2 mg/kg y Fentanest<sup>®</sup>, 0,06 mg. Tras efectuar una artrotomía de la rodilla izquierda se realizó una lesión longitudinal completa de 0,5 cm en la zona avascular del cuerpo del menisco interno. Seguidamente se suturó la lesión practicada con un punto vertical único de Dexon (poliguconato) 3/0 apoyándonos en el muro meniscal para realizar la sutura. El cierre de la artrotomía interna se efectuó con puntos sueltos de Dexon, suturando el ligamento lateral interno y cerrando la piel con seda.

El sacrificio de los animales se realizó bajo anestesia general con pentobarbital sódico mediante inyección endovenosa de 5 mEq de cloruro potásico. Tres animales se sacrificaron a las

tres semanas (Grupo A) y otros tres a las seis semanas (Grupo B).

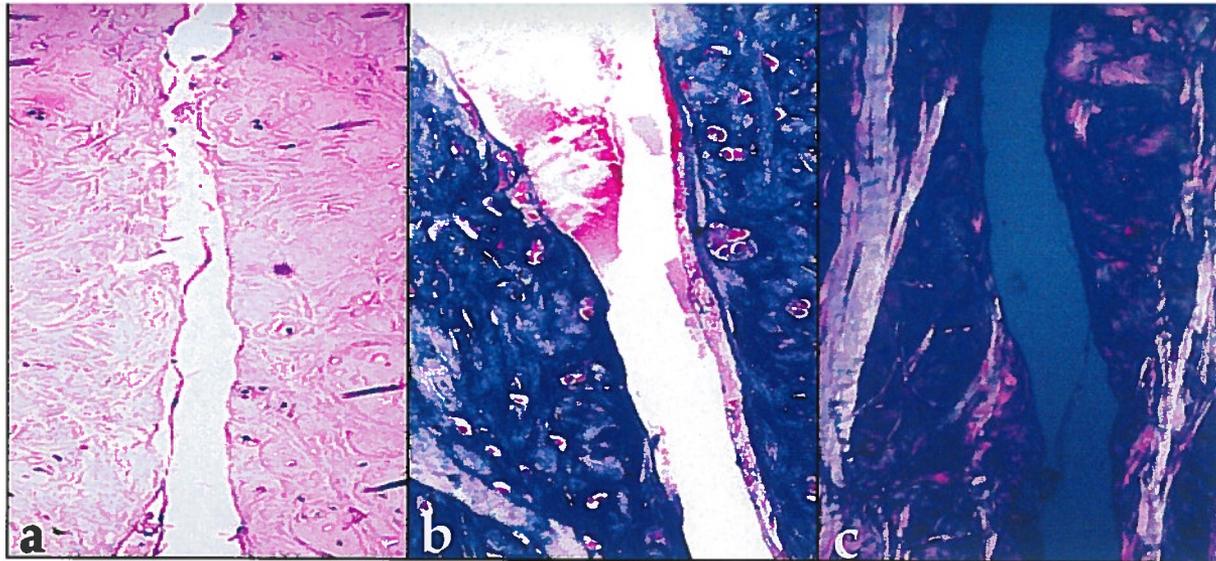
Tras la extracción de todos los meniscos, éstos se seccionaron radialmente con un bisturí, dedicando las muestras de las lesiones para el estudio histológico. La microscopía óptica convencional se llevó a cabo mediante la inclusión en parafina de las piezas talladas obteniendo secciones de 4 micras de grosor y realizando tinciones con hematoxilina-eosina, tricrómico de Masson y safranina O. En un animal de cada grupo se inyectó, por vía arterial, azul Berlín para el estudio vascular (técnica de diafanización de Spaltenholz).

Para identificar antígenos relacionados con el comportamiento de la reparación meniscal las muestras se sometieron a la siguiente técnica inmunohistoquímica: tras ser desparafinadas, se introdujeron en la estufa a 60°C (15') y se les aplicó posterior tratamiento con xilol durante 15'. En alcohol absoluto se procedió a bloquear la peroxidasa endógena mediante un tratamiento con peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), al 3%, en alcohol metílico durante 30' en oscuridad. Se hidrataron las muestras con alcoholes de graduación decreciente hasta llegar al agua desionizada. Por último, las secciones se lavaron con tampón TBS y se agregó tripsina a las preparaciones para facilitar la exposición de los epítopes del antígeno durante 30' a 37°C en TBS.

Continuamos con el bloqueo de la tinción inespecífica de fondo mediante la incubación con suero normal no inmune, al 5%, en TBS durante 30'. Las secciones fueron incubadas con los antisueros primarios específicos, una noche a 4°C en cámara húmeda.

Al día siguiente, tras lavar los cortes durante 5' en TBS, se incubaron con su correspondiente anticuerpo secundario, aplicados durante 30', a temperatura ambiente y dilución 1:200 en TBS. Tras un nuevo lavado en TBS durante 5' las secciones se incubaron con complejos avidina-biotina unidos a peroxidasa (Dakopatts<sup>®</sup>, N. 86 ref. K355) durante 30', con una dilución de 1:100 en TBS, y a temperatura ambiente en cámara húmeda. Estos complejos fueron preparados media hora antes de ser utilizados.

A continuación se realizaron dos lavados de 5', uno en TBS y otro en tampón tris-HCl 0,05 M, pH 7,36 (TB). El producto de la reacción de la peroxidasa se visualizó utilizando una solución de 3,3' D-diamino-bencidina (DAB) tetrahidrocianuro (Sigma D-5637) en TB, a una concentra-



**Figura 1. Lesión meniscal sin signos de reparación. a) Cordero 158. Tinción safranina O, x100. b) Corde-ro 40. Tricrómico de Masson, x40. c) La misma muestra con luz polarizada, x100.**

Tabla I

**MICROSCOPIA ÓPTICA**

	Grupo A		Grupo B	
Persistencia espacio	++	++	+	++
Acercamiento grupos isogénicos	++	+	++	+
Invaginación	+	+	+	+
Acercamiento vasos	-	-	+	-
Infiltrado con sutura	-	-	++	-
Reparación o puentes	-	-	+	-

Tabla II

**ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO**

	Grupo A		Grupo B	
S-100	-	-	-	-
IL-1	+	-	+	-
FGFa	-	-	-	-
FGFb	-	+	-	-
IGF-1	-	-	+	-
IGF-2	-	-	-	-
Col III	-	-	-	-
Col VI	+	+	+	+

ción de 0,3 mg/ml como cromógeno, y una gota de peróxido de hidrógeno, 0,005%, como sustrato. El lavado final se efectuó con TB y agua corriente. Se contrastaron con hematoxilina de Harris durante 10" y se deshidrataron con alcoholes crecientes antes de realizar el montaje de las preparaciones. Para los controles de absorción se utilizaron cortes seriados consecutivos y especulares (cara-revés) que también sirvieron para evidenciar la localización conjunta de diversos péptidos en el mismo tejido.

Con los controles negativos se realizaron los mismos pasos descritos, reemplazando el anticuerpo por TBS.

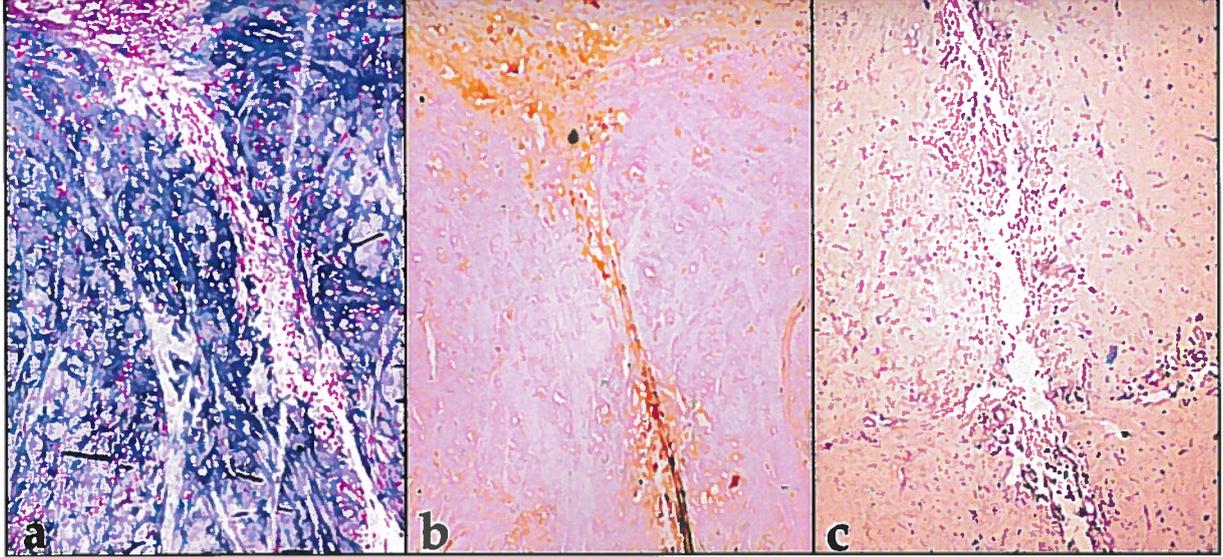
**RESULTADOS**

**Estudios histológicos**

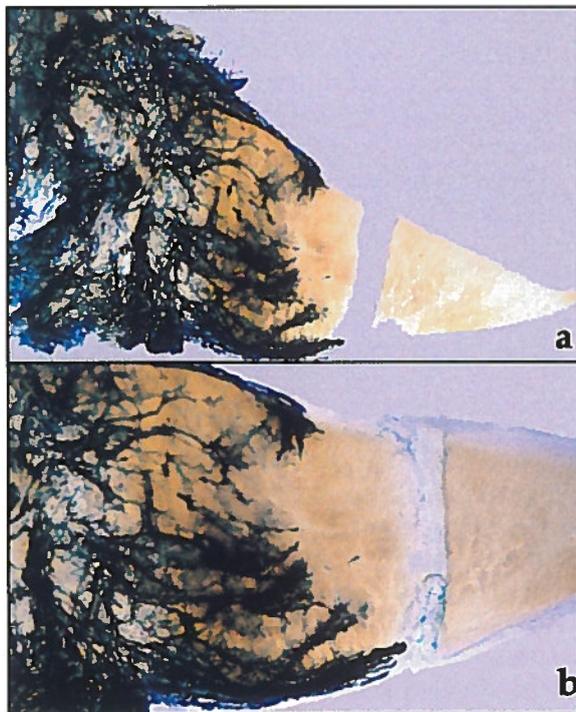
1. Microscopía óptica. En la **Tabla I** se presentan los resultados obtenidos en los distintos grupos de animales, haciendo una valoración semicuantitativa con la siguiente clasificación: 0 (ausencia), + (presencia leve), ++ (presencia evidente) de los distintos fenómenos histológicos.

En todos los especímenes se observó la permanencia de un espacio libre entre los bordes de la lesión. No vimos ningún tipo de tejido que cruzara entre ambos labios de la lesión. En todos los casos estudiados se objetivaron condrocitos en racimos, formando grupos isogénicos, orientados hacia la lesión. Esta reacción fue precoz en los animales estudiados a las tres semanas aunque no parece una respuesta muy efectiva ya que no encontramos células activas en el borde lesional. Su contribución a una eventual reparación no se aprecia en las preparaciones (**Figura 1**). Mayor actividad se observó por la llegada de células desde las superficies meniscales, superior e inferior, de origen sinovial (**Figura 2**).

Observamos que la sinovial se acerca a la zona lesionada por ambas superficies (superior e inferior). En ningún caso comprobamos que la vascularización periférica progrese hasta la zona de la lesión, siendo dicha zona siempre avascular. Sin embargo, observamos la penetración de pequeños vasos y una reacción angiogénica con aumento de la vascularización en la zona periférica, orientándose hacia la zona de la lesión (**Figura 3**).



**Figura 2.** Invaginación celular procedente del tejido sinovial. a) Tinción de Masson, x100. b) Inmunorreactividad a TGFα, x100. c) Células sinoviales adheridas al borde de la lesión. Tinción safranina O, x100.



**Figura 3.** Secciones radiales del menisco interno. Técnica de Spaltenholz. Ausencia de reparación meniscal con reacción de la sinovial por ambas superficies y penetración de vasos desde la superficie sinovial. a) x6. b) x10.

En algunas preparaciones la sección radial del menisco coincidió con la sutura, viendo las fibras de la sutura en fase de degradación (poligluconato) y cómo cerca de ella, en el canal, se objetivó una respuesta celular proliferativa con un infiltrado abundante acercándose a la lesión (**Figura 4**).

2. Estudio inmunohistoquímico. La capa de revestimiento del tejido sinovial presentó inmunorreactividad para IL-1 y S-100. La capa subsinovial mostró inmunorreactividad para colágeno III e inmunorreactividad débil para colágeno VI

e IGF-2. La pared muscular de los vasos meniscales mostraron inmunorreactividad frente a FGFα, FGFβ, IGF-2 e IL-1. Por su parte, el endotelio vascular presentó inmunorreactividad frente a FGFα (**Tabla II**).

En la zona de la lesión con los diferentes anticuerpos específicos no encontramos inmunorreactividad frente a proteína S-100 en ningún animal estudiado a nivel de la lesión. Comprobamos inmunorreactividad positiva frente a IL-1 en un animal del grupo A en la superficie articular inferior, en relación a la invaginación de células sinoviales en dicha zona, y con carácter leve en otro animal del grupo B.

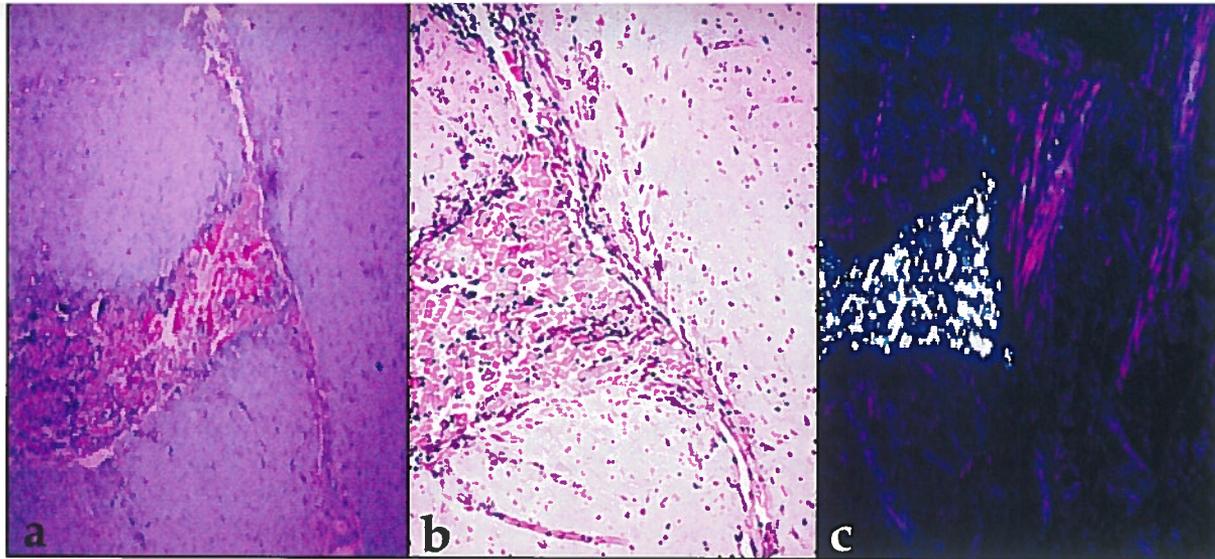
La reacción a FGFα y FGFβ fue semejante, no se apreció inmunorreactividad y sólo en un caso se vio un leve marcaje en la invaginación del borde inferior con FGFβ.

La inmunorreactividad frente a IGF-1 fue débil en un animal del grupo B, con mayor intensidad en la matriz extracelular que en las células, marcando los núcleos de los condrocitos y la sustancia pericelular de los mismos, pero no hubo respuesta a la IGF-2.

La reacción frente al colágeno tipo III fue muy débil, no apreciando marcaje significativo en ninguna de las preparaciones. El marcaje del anticuerpo contra el colágeno VI fue específico para la membrana de los condrocitos y sustancia pericondrocítica. No observamos inmunorreactividad en la zona de reparación, ya que marcaba los condrocitos alejados de la lesión, por lo que no es específico de condrocitos activados. La cuantificación de dicho anticuerpo fue leve en todos los casos.

## DISCUSIÓN

Los trabajos de Arnoczky y Warren<sup>(9,10)</sup> demuestran la limitación de la vascularización meniscal, y se ha observado que los plexos capilares



**Figura 4. Imágenes de la infiltración celular aprovechando la sutura meniscal. a) Tinción safranina O, x40. b) H-E, x100. c) Luz polarizada.**

parameniscasles irrigan, únicamente, entre el 10 y el 25% del menisco. Esto permite la cicatrización de las lesiones periféricas por vía vascular, de modo similar a como lo hacen otros tejidos. Cabaud<sup>(5)</sup> y Heatley<sup>(4)</sup> confirman que las roturas meniscasles que llegan hasta la periferia del menisco tienen capacidad de curación, por el aporte sanguíneo sinovial, en perros, monos y conejos, por lo que la sutura meniscal es un buen método para el tratamiento de las roturas en la periferia del menisco, la experiencia clínica lo confirma desde los trabajos iniciales de suturas abiertas realizados por DeHaven<sup>(6)</sup>, con un 85% de éxitos.

Webber<sup>(11,12)</sup> ha demostrado, en cultivos celulares, que los fibrocondrocitos pueden proliferar y sintetizar matriz sin aporte sanguíneo si se encuentran en el medio adecuado. El coágulo de fibrina posee las características necesarias para guiar esta respuesta meniscal intrínseca, actúa como el andamio sobre el que se desarrolla la cicatrización aportando los factores que estimulan la respuesta celular.

Sin embargo, los estudios experimentales de los desgarros en zona avascular son escasos y arrojan pocas esperanzas sobre la posibilidad de cicatrización. Ghadially<sup>(13)</sup> efectuó un estudio experimental en animales de distintas especies (conejos, perros, cerdos y ovejas) produciendo una lesión en asa de cubo en una zona alejada del muro meniscal, sin encontrar evidencia de curación histológica ni en los meniscos no suturados ni en los suturados. Sólo apreció, en algunos casos, crecimiento de tejido conectivo hacia la lesión, sin hallar condrocitos "activados" en grupos isogénicos.

En nuestro estudio se aprecia la invaginación de células de aspecto fibroblástico hacia el interior de la lesión, y la presencia de un infiltrado de células pequeñas alrededor de la sutura que podría jugar algún papel participando en

la eventual reparación, por lo se da una respuesta inicial del tejido cartilaginoso, más abundante a las tres que a las seis semanas de la intervención, pero que nunca llega a ser eficaz para unir los bordes en las circunstancias estudiadas.

Los estudios inmunohistoquímicos confirman la ausencia de condroblastos migrados al borde de la lesión por la falta de inmunorreacción con S-100 y como una débil reacción con anticuerpos IL-1, citoquina capaz de estimular la síntesis de colágeno I y III en fibroblastos sinoviales. El escaso marcaje con los factores de crecimiento insulinoideos IGF y FGF dan idea de la baja actividad mitogénica y anabólica.

Veth<sup>(14)</sup> realizó, en conejos, roturas longitudinales en el tercio medio y roturas en cuña con conexión amplia de la rotura con el muro meniscal. La curación fue significativamente mejor en las lesiones en cuña, regenerando un fibrocartilago similar al menisco normal, con mayor celularidad. De 35 lesiones en cuña, 16 mostraron signos definitivos de curación. En las lesiones longitudinales sólo 5 de las 35 presentaron signos de reparación.

Desde entonces se han propuesto distintas técnicas encaminadas a estimular la respuesta tisular para forzar la cicatrización. Arnoczky<sup>(15)</sup> fue el primero en ensayar esta vía; colocó un coágulo en un agujero realizado en la zona avascular del menisco en 12 perros, apareciendo un fibrocartilago similar al que repara las lesiones en zona vascularizada. En resumen, valorando la respuesta tisular mediante histología convencional, observamos que las células de estirpe condral se activan y parecen reconocer la lesión, aunque no participan en la reparación de la misma.

Existe un infiltrado que acompaña a la sutura y una activación a distancia de la respuesta vascular en la periferia meniscal, pero todos estos

fenómenos son ineficaces para crear un tejido que atravesase la zona lesional.

La intensidad de la reparación es muy débil, con fibroblastos en estadios precoces intentando rellenar la lesión. Ante la escasa adherencia del coágulo a la lesión se ha intentado estimular la capacidad reparadora comunicando la lesión con la sinovial a través de canales<sup>(16)</sup> o incisiones<sup>(14,17)</sup>. También se ha procurado aprovechar el potencial celular de la sinovial realizando colgajos o abrasiones<sup>(18)</sup>, pero no se ha encontrado un método eficaz y con garantías.

Es poco probable que se lleve a cabo con éxito la reparación de una lesión meniscal en la zona avascular tratada con sutura. La sutura proporciona un aumento de la estabilidad y sus canales constituyen una vía de entrada de células pluripotenciales que, unidas a las células invaginadas y a la activación de los condrocitos, hacen pensar en la posibilidad de desarrollar técnicas que consigan la cicatrización, mejorando este insuficiente proceso y, quizás la inmovilización estricta, la comunicación con zonas vascularizadas o el aporte de factores de crecimiento puedan hacer realidad este objetivo.

## BIBLIOGRAFÍA

- King, D.: The function of semilunar cartilages. *J Bone Joint Surg*, 1936; 18-A: 1069.
- Fairbank, T.J.: Knee joint changes after meniscectomy. *J Bone Joint Surg Br*, 1948; 30: 664.
- Cabot, J.R.: *Traumatología de los meniscos de la rodilla*. Editorial Paz Montalvo, Madrid, 1951.
- Heatley, F.W.: The meniscus, can it be repaired: an experimental study in rabbits. *J Bone Joint Surg*, 1980; 65-A: 397-402.
- Cabaud, H.; Rodkey, W.; Fitzwater, J.: Medial meniscus repairs. An experimental and morphologic study. *Am J Sports Med*, 1981; 9: 129.
- DeHaven, K.; Lohrer, W.; Lovelock, J.: Long term results of open meniscal repair. *Am J Sports Med*, 1995; 23: 524-530.
- Ikeuchi, H.: Surgery under arthroscopic control. In: *Proceedings of the Société Internationale d'Arthroscopie*. Rheumatology, 1976; 57-62.
- Henning, C.E.: Arthroscopic repair of meniscus tears. *Orthopedics*, 1983; 6: 1130-1132.
- Arnoczky, S.; Adams, M.; DeHaven, K.; et al.: Meniscus. In: Woo, S.L-Y.; Buckwalter, J.A.; (Eds.): *Injury and repair of the musculoskeletal soft tissues*. Park Ridge, I.L. American Academy of Orthopaedic Surgeons, 1988: 487-537.
- Warren, R.F.: Meniscectomy and repair in the anterior cruciate ligament-deficient knee. *Clin Orthop*, 1990; 252: 55-63.
- Webber, R.J.; Harris, M.G.; Hough, A.J. Jr.: Cell culture of rabbit meniscal fibrochondrocytes: proliferative and synthetic response to growth factors and ascorbate. *J Orthop Res*, 1985; 3: 36-42.
- Webber, R.; York, J.; Vanderschelden, J.; Hough, A.: An organ culture model for assaying wound repair of the fibrocartilaginous knee joint meniscus. *Am J Sports Med*, 1989; 17: 393-400.
- Ghadially, F.; Wedge, H.; Lalonde, J.: Experimental methods of repairing injured menisci. *J Bone Joint Surg*, 1986; 63-B: 106-110.
- Veth, R.; DenHeeten, G.; Jansen, H.; Nielsen, H.: Repair of the meniscus: an experimental study in rabbits. *Clin Orthop*, 1983; 175: 258-262.
- Arnoczky, S.; Warren, R.; Spivak, J.: Meniscal repair using an exogenous fibrin clot. *J Bone Joint Surg Am*, 1988; 70: 1209.
- Zhongnan, Z.; Kaiyuan, T.; Yinkan, X.; Wenming, Z.; Zhentian, L.; Shihuan, O. Treatment of longitudinal injuries in avascular area of meniscus in dogs by trephination. *Arthroscopy*, 1988; 4: 151.
- Burgos, J.; Ocete, G.: Tratamiento de los desgarros meniscales verticales sin extirpación. Estudio experimental. *Rev Ortop Traumatol*, 1990; 34: 220-230.
- Henning, C.E.; Clark, J.R.; Lynch, M.A.; Stalbaumer, R.; Yearout, K.M.; Vequist, S.W.: Arthroscopic meniscus repair with a posterior incision. In: *American Academy of Orthopaedic Surgeons. Instructional course lectures*, 1988; 37: 209-221.