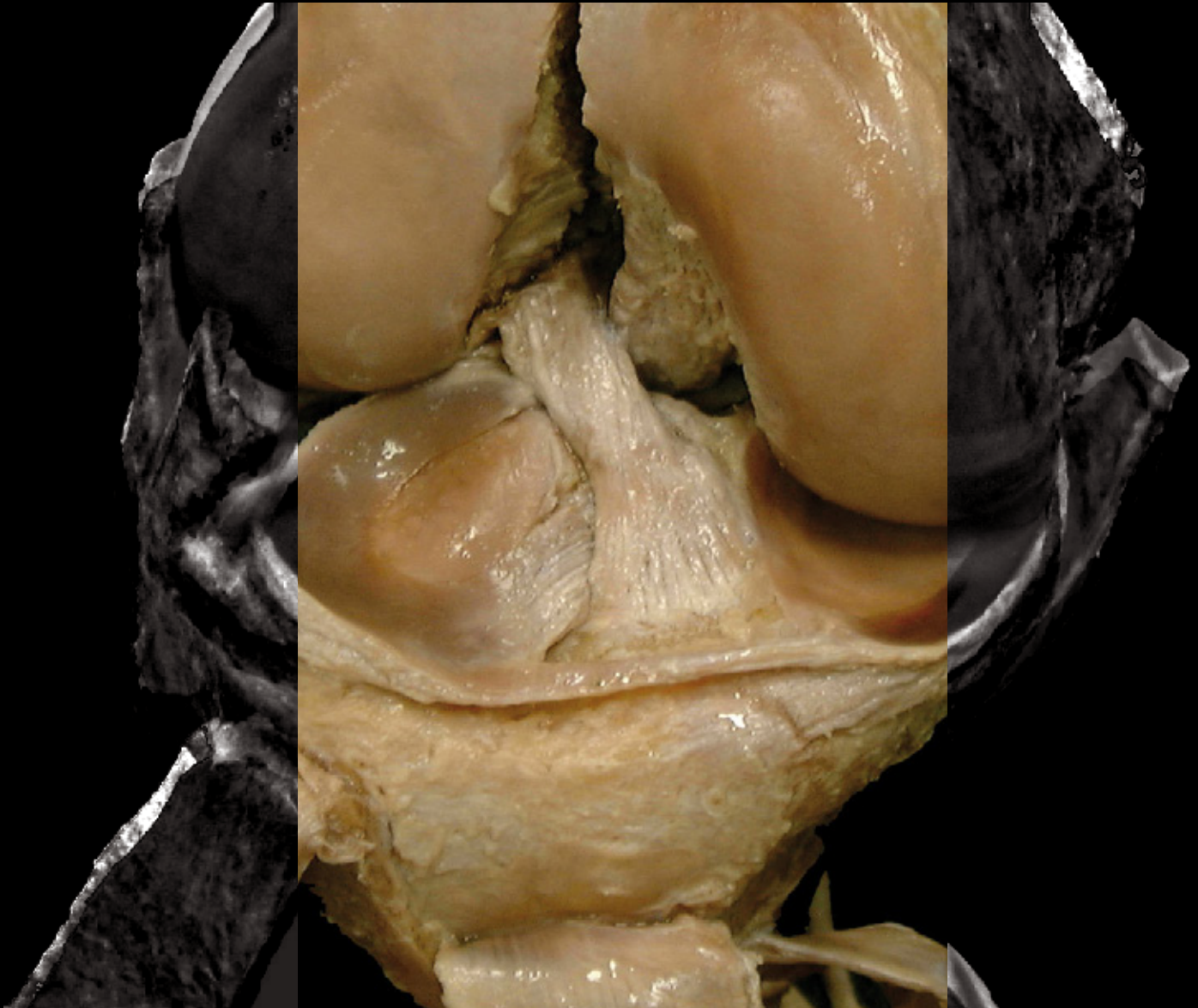


Trasplante Meniscal Alogénico Artroscópico: Resultados Clínicos y Viabilidad Celular



TESIS DOCTORAL

Ferran Abat González

Directores:

Prof. Joan Carles Monllau García

Dr. Pablo E. Gelber Ghertner

Septiembre 2013



Trasplante Meniscal Alogénico Artroscópico:
Resultados Clínicos y Viabilidad Celular

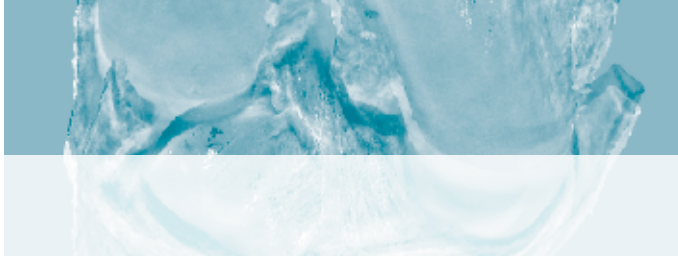
TESIS DOCTORAL
Ferran Abat González

Directores:
Prof. Joan Carles Monllau García
Dr. Pablo E. Gelber Ghertner

UAB
Universitat Autònoma
de Barcelona

Departamento de Cirugía
Facultad de Medicina
Universitat Autònoma de Barcelona

Septiembre 2013



Agraïments:

*Gràcies a tots aquells que m'han ajudat a forjar el meu caràcter
i m'han donat empenta per a treballar dur cada dia.*

*Especial menció al Pablo per ser el meu mestre i germà.
Mai oblidaré tot el que has fet per mi.*

*Gràcies Joan Carles per les teves ensenyances i per donar-me
l'oportunitat de formar part del teu gran equip.*

Dedicat a:

*La meva Mare pel teu amor;
i al meu Pare, el teu esforç m'ha fet ser qui sóc.*

*A la meva dona
i a la meva família pel seu recolzament i afecte*





SUMARIO

1. FUNDAMENTO DE LA TESIS	6
2. INTRODUCCIÓN	9
2.1. Embriología y Composición Meniscal.....	9
2.2. Anatomía	10
2.3. Biomecánica	20
2.4. El Trasplante Meniscal	21
2.5. Indicaciones y Contraindicaciones del Trasplante Meniscal	22
2.6. Evaluación Radiográfica y Tamaño del Injerto	23
2.7. Tipo de Injerto Meniscal.....	24
2.8. Fijación del Injerto	26
2.9. Concepto de Extrusión Meniscal	28
3. HIPÓTESIS DE TRABAJO	29
4. MATERIAL Y MÉTODO	31
5. RESULTADOS	45
6. DISCUSIÓN	51
6.1. Resultados funcionales y extrusión del injerto del trasplante meniscal alogénico	51
6.2. Preservación del injerto	54
6.3. Limitaciones de los estudios presentados.....	58
7. CONCLUSIONES	60
8. COPIA DE LOS TRABAJOS	62
8.1. Prospective comparative study between two different fixation techniques in meniscal allograft transplantation	62
8.2. Suture-Only Fixation Technique Leads to a Higher Degree of Extrusion Than Bony Fixation in Meniscal Allograft Transplantation	69
8.3. Host serum is not indispensable in collagen performance in viable meniscal transplantation at 4-week incubation.....	75
9. BIBLIOGRAFÍA	83
10. APÉNDICES	97

1. FUNDAMENTO DE LA TESIS

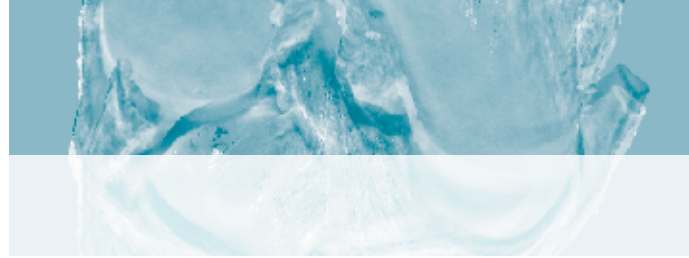
La resección meniscal o meniscectomía fue el tratamiento de elección de las lesiones meniscales durante mucho tiempo. Desde que la literatura reportó reiteradamente los cambios articulares degenerativos tras este gesto quirúrgico a largo plazo, la forma de tratar estas lesiones ha ido cambiando hacia un proceder cada vez más conservador¹.

Además, la resección meniscal conlleva en muchos casos al dolor compartimental a medio o largo plazo, denominado como síndrome postmeniscectomía. En un intento de paliar de forma biológica este dolor y de potencialmente prevenir la degeneración articular debida a una disminución de tejido meniscal, a mediados de los años 80' se planteó el trasplante meniscal alogénico (TMA) como una posible solución². Esta alternativa terapéutica ha reportado buenos resultados a medio y largo plazo³⁻⁸.

Si bien el efecto positivo del TMA sobre el síndrome postmeniscectomía es ya incuestionable, el efecto condroprotector a largo plazo del TMA no ha sido claramente demostrado⁹⁻¹³.

Dentro de las técnicas de fijación del implante, si bien la fijación mediante suturas representa una menor dificultad técnica, estudios en cadáver han demostrado una mejor transmisión en las fuerzas de presión cuando la fijación se realiza con tejido óseo conservado en el menisco trasplantado^{14,15}. Sin embargo, la superioridad clínica de una técnica de fijación sobre la otra no ha sido demostrada^{6,16-19}.

El término extrusión meniscal hace referencia a la situación en la que el tejido meniscal se encuentra al menos en un 25% desplazado por fuera del margen tibial²⁰. Es evidente y así se ha sugerido²¹, que este “desnudamiento” de la superficie tibial atenta contra el normal funcionamiento biomecánico del menisco. Trasladando esta situación de extrusión meniscal al contexto del TMA podría limitar los potenciales beneficios de ésta técnica. Incluso se ha especulado sobre si el método de fijación del injerto puede afectar la mecánica articular¹⁴.



Otro tema de controversia alrededor del TMA, es el método de preservación del injerto. Mientras que la liofilización se ha dejado de usar dado que se ha demostrado que altera la ultraestructura del injerto conllevando a pobres resultados funcionales²², la congelación ha resultado ser un método simple y con buenos resultados funcionales. Sin embargo, aunque para algunos autores²³ con la congelación simple el injerto seguiría manteniendo sus características biomecánicas, recientemente Gelber et al.²⁴ han demostrado que esta congelación afecta la ultraestructura de la red colágena. Esto puede evitarse con la criopreservación del tejido que incluso parece mantener la estructura celular, aunque este último punto también está en debate²⁵. Finalmente, el injerto fresco se presentaría como la opción más idónea^{26,27}, ya que no produce destrucción celular e incluso preserva la capacidad de producir proteoglicanos y fibras de colágeno por dichas células²⁸. La principal limitación de esta técnica de preservación meniscal es la dificultad logística y la necesidad de incubar previamente al injerto a trasplantarse con el suero del receptor, aunque esto último se podría evitar si se utilizaran medios de cultivo genéricos como el Insulin-Transferrin-Selenio (ITS)²⁹⁻³¹. Sin embargo, no se ha reportado hasta la fecha su utilización en este terreno de la conservación meniscal.

Ante este escenario, cada uno de los artículos que componen esta tesis por Compendio de Publicaciones se centró en el estudio de uno de los siguientes tres puntos clave en el TMA.

- A.** Comparación de dos métodos de fijación del injerto valorando si existen diferencias clínico-funcionales. (Abat F, Gelber PE, Erquicia J, Tey M, González-Lucena G, Monllau JC. *Prospective comparative study between two different fixation techniques in meniscal allograft transplantation. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2013 Jul;21(7):1516-22.)
- B.** Valoración del grado de extrusión del injerto meniscal en relación al método de fijación empleado (Abat F, Gelber PE, Erquicia J, Pelfort X, González-Lucena G, Monllau JC. *Suture-Only Fixation Technique Leads to a Higher Degree of Extrusion Than Bony Fixation in Meniscal Allograft Transplantation. Am J Sports Med.* 2012 Jul;40(7):1591-6.)

- C.** Investigación sobre el efecto de un medio de cultivo genérico suplementado con ITS en la estructura colágena y el metabolismo celular del injerto meniscal fresco (Gelber PE, Torres R, Garcia-Giralt N, Erquicia J, Abat F, Monllau JC. *Host serum is not indispensable in collagen performance in viable meniscal transplantation at 4-week incubation. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2012 Sep;20(9):1681-8).

2. INTRODUCCIÓN

El menisco es una estructura colágena básica en la mecánica de la rodilla. Situado entre la tibia y el fémur, tanto en el compartimento medial como lateral, actúa como amortiguador de las fuerzas de carga de la rodilla (Figura 1). De su preservación dependerá, en gran medida, las cualidades biomecánicas de la rodilla durante la etapa adulta. Es por ello que cada vez se entiende más la importancia de su cuidado y preservación.

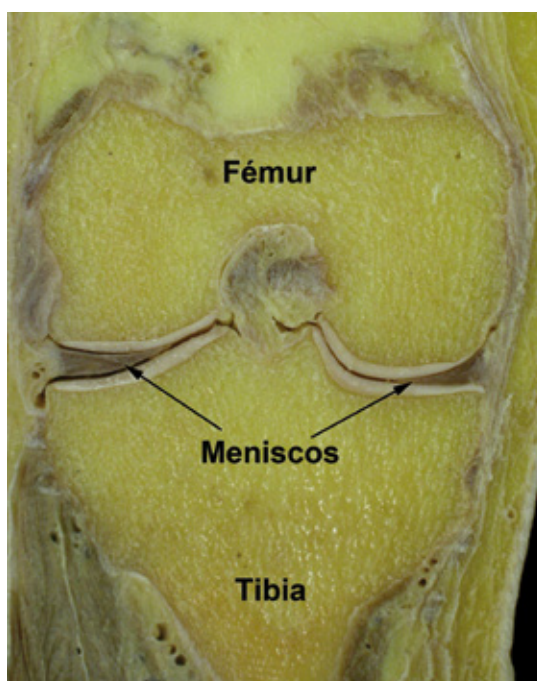


Fig 1.

Preparación anatómica donde se observa la disposición de ambos meniscos entre la tibia y el fémur.

Imagen cedida por el Prof. Alfonso Rodríguez Baeza, Departamento de Ciencias Morfológicas, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB).

2.1. Embriología y Composición Meniscal

La formación y modelado de los meniscos aparece durante la octava semana de gestación^{32,33}. A medida que aumenta y se remodela la formación de la ultraestructura de la red colágena meniscal, la vascularización y la celularidad del menisco disminuyen³². Las fibras de colágeno meniscal en el feto se disponen en su gran mayoría circunferencialmente, en combinación con otras fibras dispuestas de forma radial en la superficie meniscal³⁴. Asociado a la intrínseca mayor capacidad de curación de los niños, esta alta densidad de colágeno y disposición fibrilar es la responsable del bajo número de lesiones meniscales irreversibles en los niños.

El menisco está compuesto por un 72% de agua, un 22% de colágeno, un 0,8% de glicosaminglicanos y un 0,12% de ADN³⁵. En su base seca se compone de un 78% de colágeno, un 8% de otras proteínas y un 1% de hexosamina³⁶. Dentro de los subtipos de colágeno, la mayoría es del tipo I (90%), mientras que el 10% restante pertenece a los tipos de colágeno II, III y IV. Estas fibras de colágeno se hallan interpuestas alrededor de células y junto a una matriz extracelular de proteoglicanos y glicoproteínas^{37,38}. La composición de estos proteoglicanos es de aproximadamente un 40% de condroitin-6-sulfato, un 10 al 20% de condroitin-4-sulfato, un 20 al 30% de dermatan-sulfato y un 15% de queratan-sulfato.

La histología neural menisco se caracteriza por la presencia de terminaciones nerviosas libres que se sitúan principalmente en el tercio medio del menisco, así como por mecanorreceptores ubicados mayoritariamente en los cuernos anterior y posterior³⁹.

Desde un punto de vista inmunológico los meniscos tienen sus células dentro de una matriz no accesible a células inmunoreactivas⁴⁰, lo que hace a los trasplantes meniscales unos privilegiados en el ámbito del trasplante de órganos dado que no presentan respuesta inmune^{41,42}. A pesar de ello, se han reportado algunos casos aislados de rechazo en animales^{43,44}.

A nivel clínico, parece ser que si existiese una pequeña respuesta inmune, ésta no tendría ninguna repercusión clínica y que por lo tanto no habría riesgo de rechazo del injerto.

2.2. Anatomía

Los meniscos son dos estructuras fibrocartilaginosas en forma de media luna que se sitúan entre los cóndilos femorales y el platillo tibial cubriendo parcialmente su superficie (*Figura 2*). Tienen una forma de cuña en su sección transversal con un borde periférico convexo que los une a la cápsula articular y a los márgenes anteriores y posteriores de la tibia (*Figura 3*).



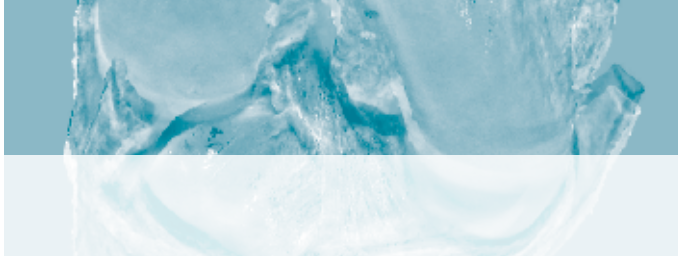


Fig 2. Preparación anatómica mostrando las relaciones anatómicas de los meniscos así como el distinto grado de cobertura del platillo tibial medial y lateral. Imagen cedida por el Prof. Alfonso Rodríguez Baeza, Departamento de Ciencias Morfológicas, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB).

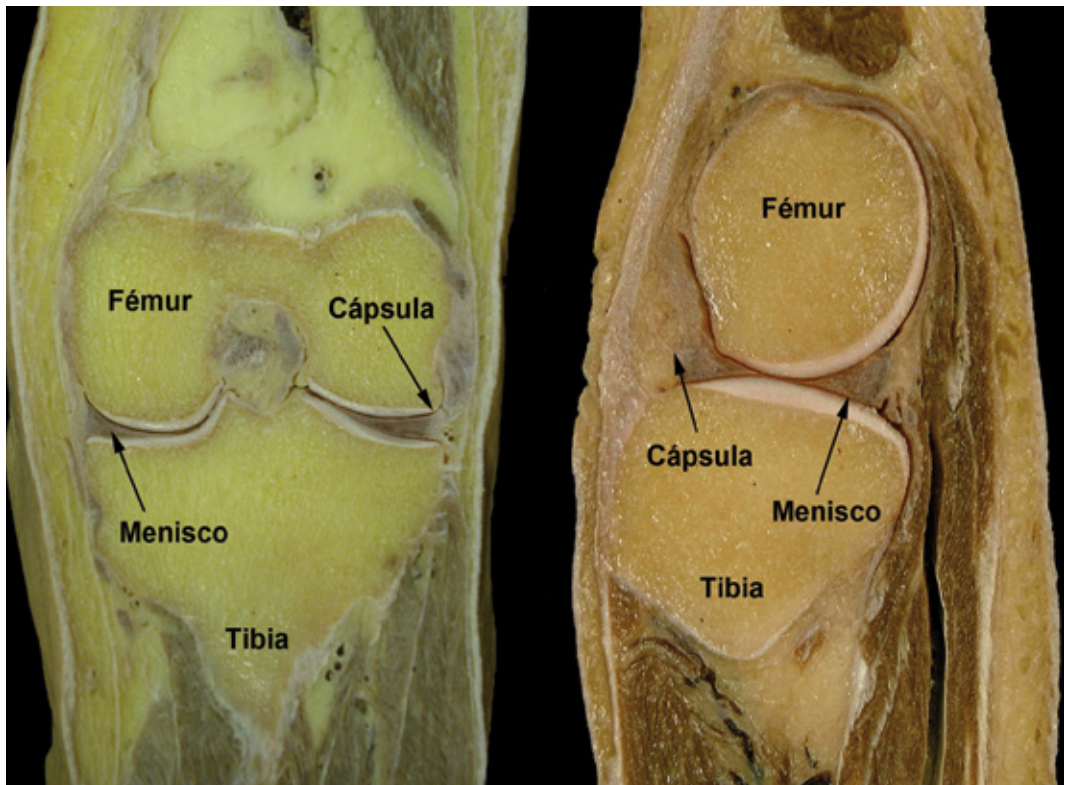


Fig 3. Preparación anatómica donde se aprecia la forma de cuña con vértice hacia el centro de la articulación. Obsérvese el borde periférico del menisco adherido a la cápsula articular. Imagen cedida por el Prof. Alfonso Rodríguez Baeza, Departamento de Ciencias Morfológicas, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB).



Los meniscos medial y lateral tienen forma y tamaño distintos, siendo el menisco medial más grande (tamaño medio de 45x27mm) que el lateral (tamaño medio de 35x29mm)⁴⁵. Sin embargo, existe una alta variabilidad en cuanto al tamaño meniscal entre diferentes individuos. Entre ambos ocupan entre el 50% y el 70% del total de la zona de carga en el platillo tibial^{46,47}, aunque este porcentaje depende del grado de carga que se aplique sobre la rodilla (*Figura 4*).



Fig 4.

Preparación anatómica objetivando las importantes diferencias en cuanto a tamaño y forma del menisco medial (más grande) y el lateral. Imagen cedida por el Prof. Alfonso Rodríguez Baeza, Departamento de Ciencias Morfológicas, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB).

Resulta llamativo actualmente que en el pasado se les haya considerado como simples remanentes sin función en la biomecánica de la rodilla⁴⁶. Hoy ya se sabe de su crucial papel en la absorción de las fuerzas de contacto.

El compartimento fémoro-tibial dispone de diversas características que influyen en la configuración y mecánica meniscal. En primer lugar el ángulo bicondilar del fémur que reparte la carga de forma desigual entre el compartimento medial y el lateral (*Figura 5*). En segundo lugar el marcado surco fémoro-tibial que proporciona una guía para la translación sagital de la rótula durante la marcha. Por último, la doble inserción del menisco lateral al platillo tibial limita la movilidad de éste sobre la tibia durante la flexión y rotación de rodilla^{49,50}.

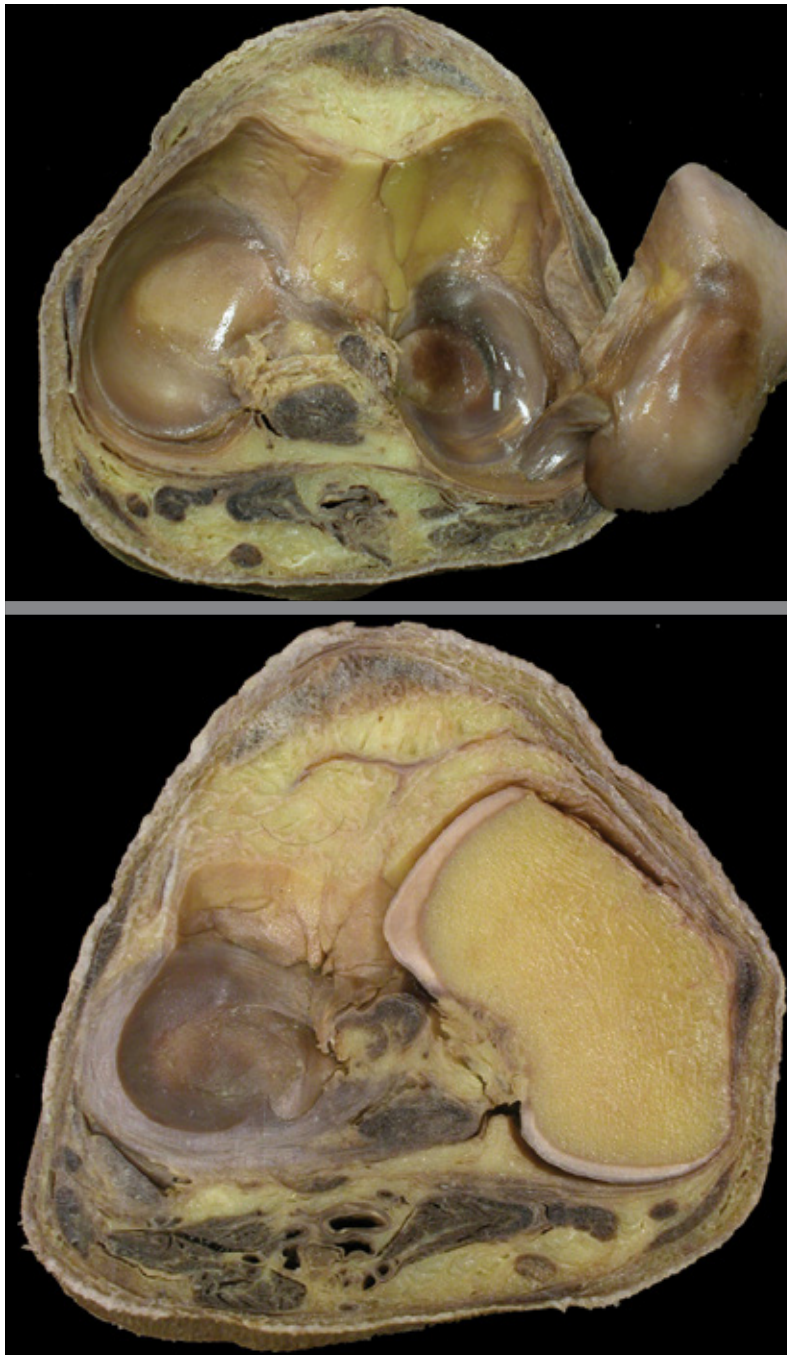
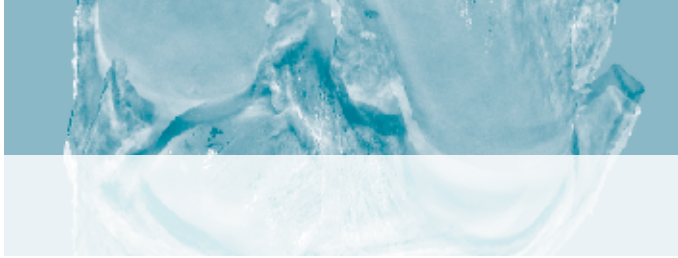


Fig 5.

Preparación anatómica donde se muestra la relación del cóndilo femoral con la estructura meniscal. Obsérvese la imagen superior en la cual el cóndilo femoral se encuentra levantado de su posición anatómica. Imagen cedida por el Prof. Alfonso Rodríguez Baeza, Departamento de Ciencias Morfológicas, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB).

Las fibras de colágeno en el menisco se disponen circunferencialmente y se continúan con las inserciones ligamentosas anteriores y posteriores. La inserción anterior del menisco medial, en forma de abanico (Figura 6), se sitúa 6mm por delante de la inserción del ligamento cruzado anterior (LCA). Mientras que la del menisco lateral se sitúa en la fosa intercondílea tibial anterior, lateralmente al LCA y anterior a la eminencia intercondílea (Figura 7). La inserción posterior del menisco medial se sitúa en





Fig 6.

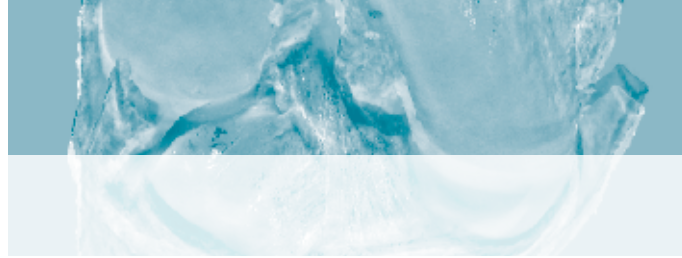
Preparación anatómica que muestra las relaciones del menisco con el LCA. Imagen cedida por el Prof. Alfonso Rodríguez Baeza, Departamento de Ciencias Morfológicas, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB).



Fig 7:

Preparación anatómica mostrando las inserciones meniscales. Imagen cedida por el Prof. Alfonso Rodríguez Baeza, Departamento de Ciencias Morfológicas, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB).

la fosa intercondílea tibial, entre la inserción del menisco lateral y el ligamento cruzado posterior (LCP), mientras que la inserción posterior del menisco lateral se sitúa ligeramente más anterior que el menisco medial en la eminencia intercondílea posterior. La precisa localización de estos anclajes meniscales son de vital importancia



ya que aseguran que el menisco se mantenga en su posición óptima tanto en fases estáticas como en dinámicas⁵¹. Estas inserciones posteriores a la espina tibial lateral se suman a los ligamentos meniscofemorales, quienes se unen el cuerno posterior del menisco lateral a la cara lateral del cóndilo femoral, en la escotadura intercondílea⁵². El ligamento meniscofemoral posterior o de Wrisberg discurre posterior al LCP (Figura 8) mientras que el ligamento meniscofemoral anterior o de Humphrey discurre



Fig 8.

Preparación anatómica donde se observa el ligamento meniscofemoral posterior o de Wrisberg (flecha) situado posterior al ligamento cruzado posterior. Imagen cedida por el Prof. Alfonso Rodríguez Baeza, Departamento de Ciencias Morfológicas, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB).

re anterior al LCP (Figura 9). Ambos acaban insertándose a nivel femoral en su cóndilo medial, reforzando esta fijación posterior del menisco lateral⁵³.

A nivel de ambos cuernos anteriores de los meniscos, solidarizando ambos cuernos anteriores encontramos ligamento intermeniscal anterior (Figura 10), ligamento geniculado transverso o ligamento yugal, que posee unas medidas medias de 33mm de largo por x 3mm de ancho^{54,55}. Aunque la función exacta de este ligamento no está claramente determinada, parece que juega un papel importante durante los movimientos de rotación interna y externa de la tibia.



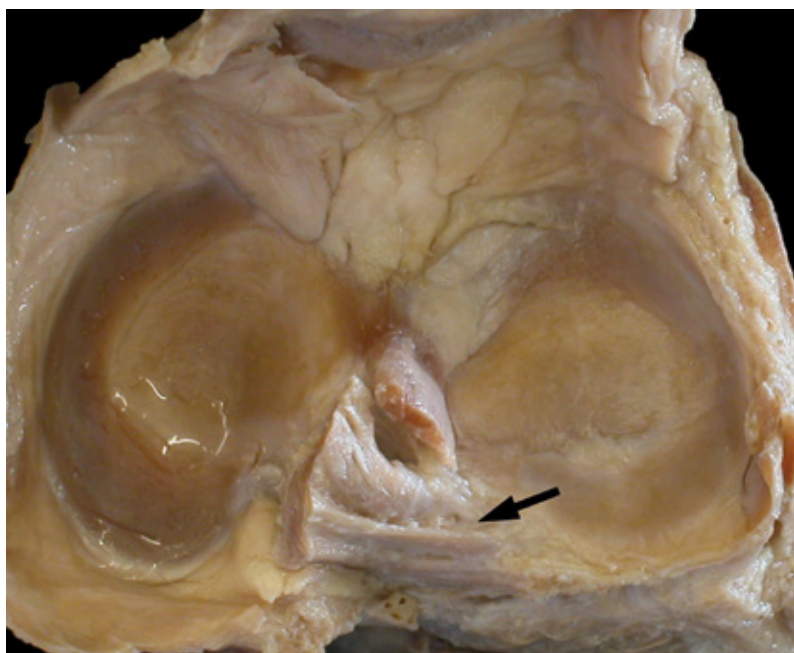


Fig 9:
Preparación anatómica donde se observa el ligamento meniscofemoral anterior o de Humphrey (flecha) inmediatamente anterior al ligamento cruzado posterior. Imagen cedida por el Prof. Alfonso Rodríguez Baeza, Departamento de Ciencias Morfológicas, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB).



Fig 10.
Preparación anatómica donde se observa el ligamento intermeniscal anterior (flecha). Imagen cedida por el Prof. Alfonso Rodríguez Baeza, Departamento de Ciencias Morfológicas, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB).

Especial consideración merece el menisco discoideo (*Figura 11*), que ocurre casi exclusivamente en el lado lateral⁵⁶ y se presenta como un menisco que ocupa la mayor parte del platillo tibial debido a una mal desarrollo embriológico del tejido meniscal^{57,58} y que tiene una prevalencia de entre el 2% y el 6%^{59,60}. El hecho de ocupar una mayor parte del platillo tibial así como la frecuente hiper movilidad por la falta de una fijación estable del cuerno posterior conducen frecuentemente a que se expresen

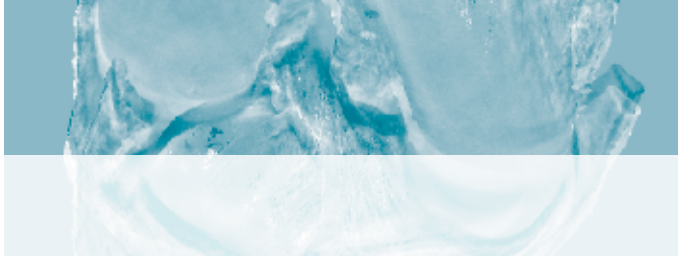
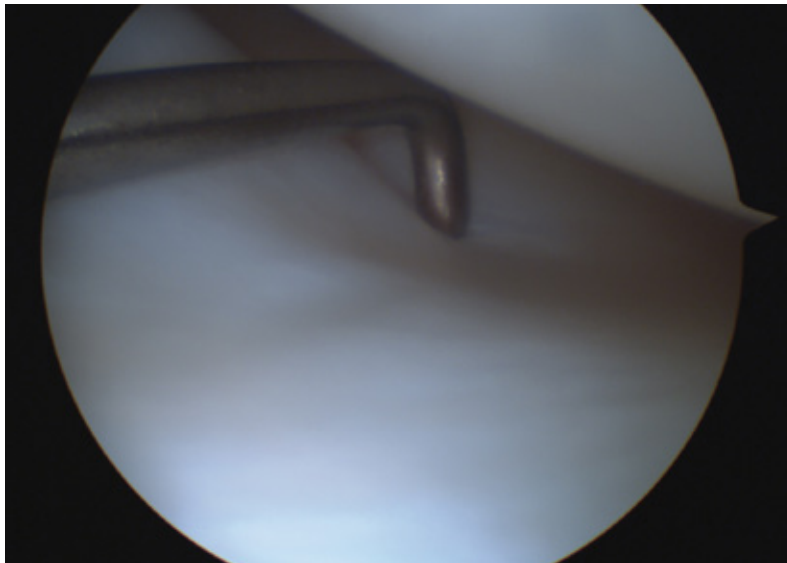


Fig 11.

Visión artroscópica del compartimento femorotibial, se muestra un menisco discoideo que ocupa prácticamente la totalidad del compartimento.



clínicamente con síntomas mecánicos en la etapa adulta (Figura 12). La clasificación más usada para los meniscos discoideos es la propuesta por Watanabe et al.⁴⁸ donde se describen tres alteraciones. Tipo 1 o disco completo, con una forma circular con el centro adelgazado que cubre toda la meseta tibial. Tipo 2 o menisco incompleto, con forma semilunar que cubre parcialmente la meseta tibial. Tipo 3 de Wrisberg o menisco hipermóvil debido a la deficiencia de la fijación tibial posterior. Más recientemente Monllau et al.⁶¹ describieron un cuarto tipo (Figura 13) en forma de anillo (ring type).



Fig 12.

Resonancia magnética que muestra lesión (flecha) en un menisco discoideo.



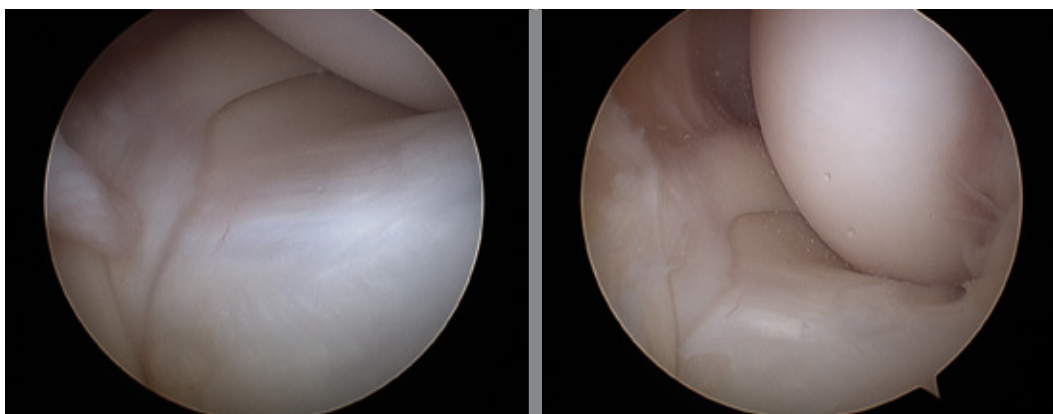


Fig 13.

Visión artroscópica de la articulación fémorotibial mostrando el cuarto tipo de menisco discoideo descrito por Monllau et al.⁶¹.

La vascularización meniscal (Figura 14) proveniente de las arterias geniculadas mediales y laterales y penetra en el tejido meniscal por el plexo parameniscal⁶². Esta irrigación llega en los adultos sólo al 30% periférico del menisco medial y al 25% en el menisco

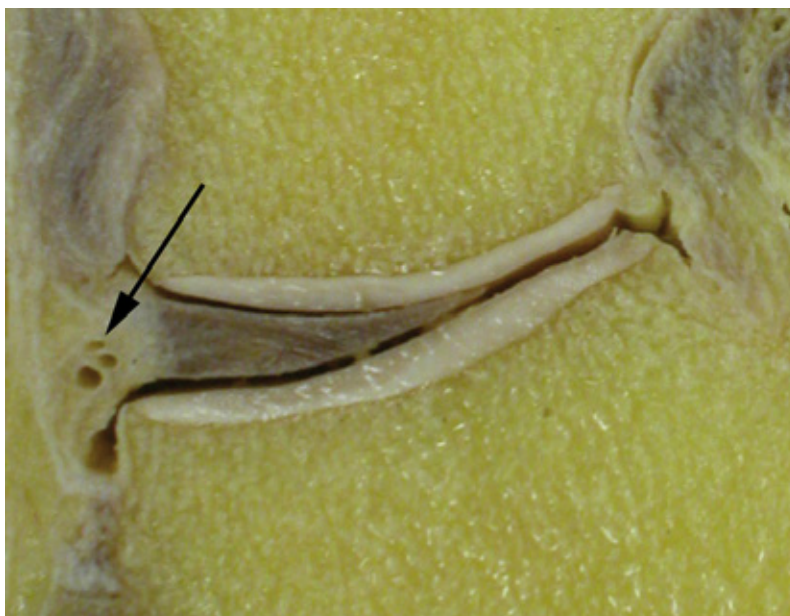


Fig 14.

Preparación anatómica mostrando en detalle la vascularización meniscal (flecha) que penetra desde la periferia. Imagen cedida por el Prof. Alfonso Rodríguez Baeza, Departamento de Ciencias Morfológicas, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB).

lateral (Figura 15). Esto ha llevado a arbitrariamente clasificar 3 zonas (Figura 16) en relación a su irrigación y su potencial capacidad de curación ante roturas del tejido como la zona roja-roja (más externa y vascularizada), zona roja-blanca (intermedia y poco vascularizada) y blanca (avascular)⁶⁴⁻⁶⁶.

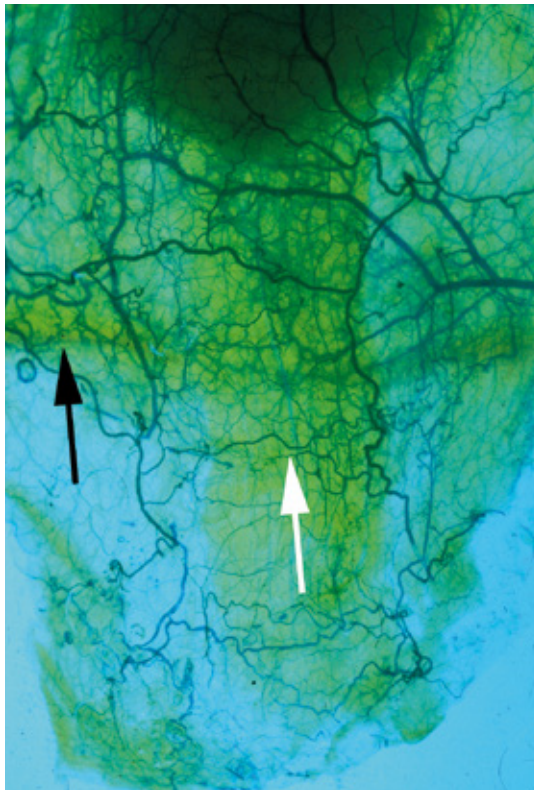
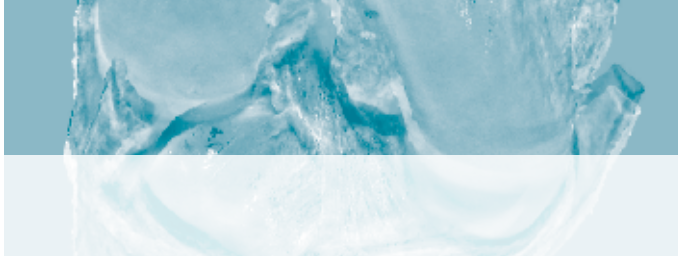


Fig 15.

Vascularización de la cara anterior de la rodilla obtenida por preparación con técnica de Spalteholz. Se puede observar por transparencia la vascularización central del tendón rotuliano (flecha blanca) así como la vascularización meniscal (flecha negra)⁶³. Imagen cedida por el Prof. Alfonso Rodríguez Baeza, Departamento de Ciencias Morfológicas, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB).

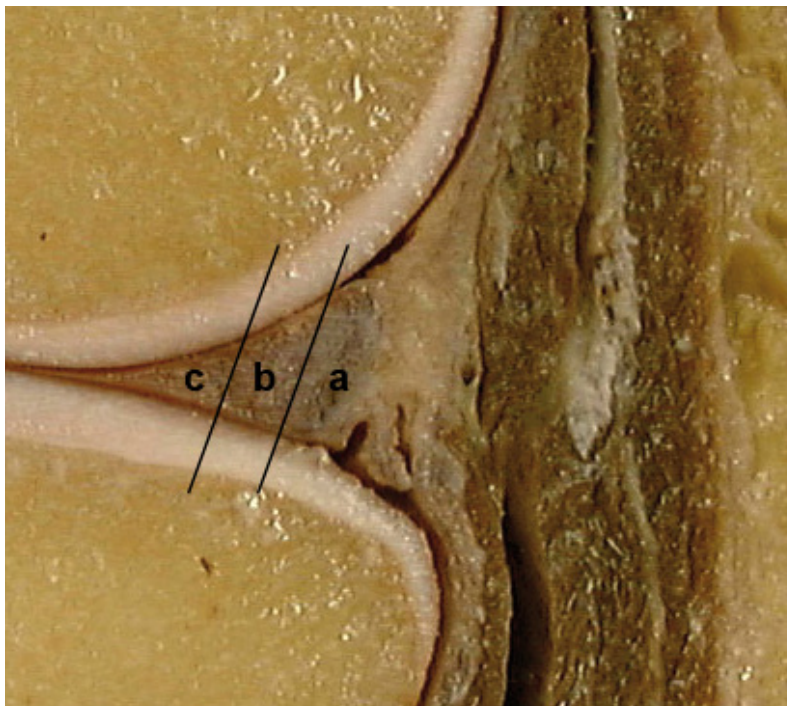


Fig 16.

Preparación anatómica mostrando en detalle las diferentes zonas meniscales según su grado de aporte vascular. Se distingue la zona roja-roja (a), roja-blanca (b) y blanca (c). Imagen cedida por el Prof. Alfonso Rodríguez Baeza, Departamento de Ciencias Morfológicas, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB).



Los meniscos son estructuras altamente inervadas, mayoritariamente mediante mecanorreceptores de tipo III, situados principalmente en las astas meniscales. Esta inervación aporta propiocepción a la articulación, de gran importancia en la biomecánica de la rodilla⁶⁷.

2.3. Biomecánica

La articulación de la rodilla al disponer de una superficie femoral convexa y una tibial plana, presenta escasa congruencia. La superficie meniscal cóncava proporciona un aumento de congruencia entre fémur y tibia, reduciendo así el estrés al que se ve sujeto el cartílago articular⁶⁷. Tal y como demostraron Kurosawa et al.⁶⁸ la carga axial de la rodilla se distribuye a través de los meniscos y aumenta según lo hace la flexión de la rodilla. En particular, el menisco lateral soporta y absorbe el 70% de la carga en su compartimento mientras que el medial transmite sólo el 50%, conllevando a mayores repercusiones biomecánicas nocivas cuando se realiza una resección meniscal lateral que medial.

La composición meniscal con fibras de colágeno dispuestas longitudinalmente hace que las cargas axiales se conviertan en momentos de fuerza circunferencial (del anglosajón, *loop stress*). Esta particular ultraestructura meniscal es esencial en el relevante rol de distribución de carga y de amortiguación de la rodilla⁶⁹. Tal es así que se ha demostrado que la disminución del tamaño meniscal por lesión o por meniscectomía (*Figura 17*) afecta el reparto de cargas de tal manera que pueden disminuir el área de contacto en un 75% y un aumento de las cargas de hasta un 313% en meniscectomías totales¹.

Durante el movimiento de la rodilla los meniscos tienen cierto grado de desplazamiento. Este proceso dinámico ayuda a mantener las fuerzas de presiones óptimas y la máxima congruencia articular posible entre la tibia y el fémur durante la bipedestación y el movimiento⁷⁰. De forma general, los meniscos migran a posterior durante la flexión, siendo más móvil el cuerno anterior que el posterior, y el menisco lateral más móvil que el medial.



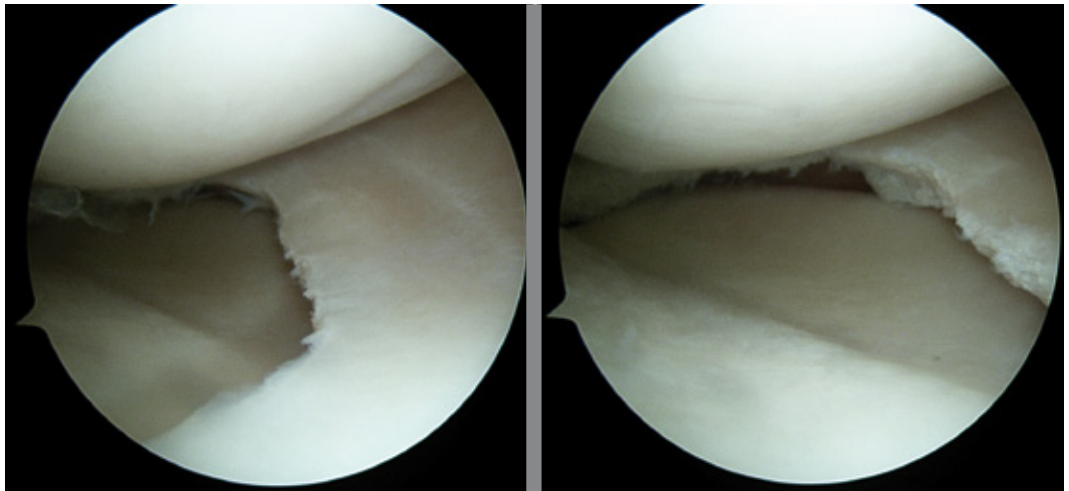
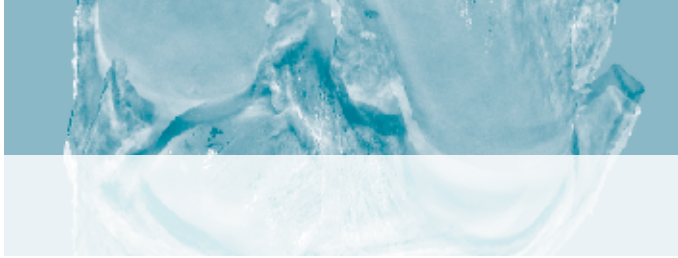


Fig 17.

Visión artroscópica doble de la articulación fémorotibial medial, posterior a una meniscectomía parcial donde se observa una parte de la meseta tibial descubierta y sin la protección del tejido meniscal.

2.4. El Trasplante Meniscal

El primer antecedente histórico sobre el concepto de reemplazo meniscal se puede retrotraer a 1908, cuando Lexer y Gebhardt⁷¹ realizaron una artroplastia de interposición grasa. Posteriormente autores como Loch et al.⁷² realizaron trasplantes de meseta tibial o completos de rodilla^{73,74}. Pero no fue hasta 1984 cuando Milachowski² realizó el primer trasplante meniscal aislado, en este caso con injertos frescos liofilizados. Desde entonces se han ido reportando diversos trasplantes con injertos^{75,76} o más recientemente implantes sintéticos con cierto grado de éxito⁷⁷⁻⁸².

Desde el punto de vista del efecto condroprotector del trasplante meniscal, autores como Arnoczky⁸³ o Mikic⁸⁴ reportaron cierto grado de protección del cartílago tras el trasplante meniscal en sus estudios experimentales. Sin embargo, otros estudios no han mostrado diferencias significativas entre los animales trasplantados y los meniscectomizados^{83,85,86}.



2.5. Indicaciones y Contraindicaciones del Trasplante Meniscal

Para hablar de la indicación del trasplante meniscal debemos definir el síndrome post-meniscectomía. Éste se describe como un dolor en un compartimento previamente meniscectomizado, el cual es certificado por una resonancia magnética que evidencia un compartimento fémoro-tibial con ausencia parcial o completa de tejido meniscal (*Figura 18*). Es en estos últimos casos con meniscectomía total o subtotal previa que el trasplante meniscal con aloinjerto encuentra su lugar como terapéutica.

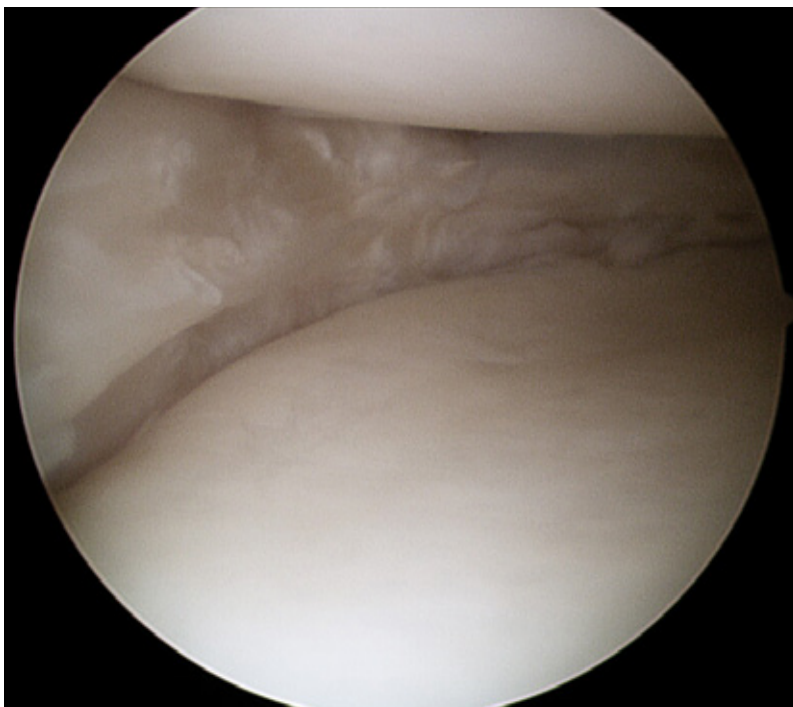
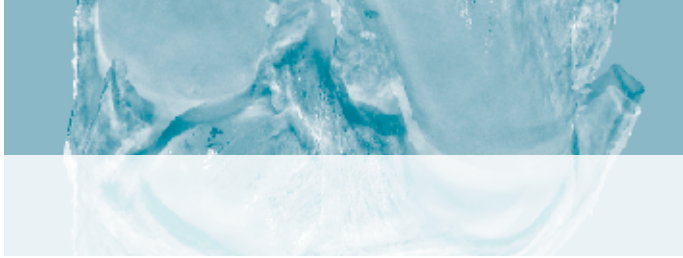


Fig 18.

Visión artroscópica del compartimento fémorotibial medial mostrando la ausencia total de tejido meniscal.

El paciente además debe ser joven, un término difícil de acotar y que no está claramente definido en la bibliografía, pero que se podría de forma arbitraria y no concluyente establecerse en el límite de los 50 años, o más ambiguamente en un paciente no candidato a artroplastia de rodilla por su temprana edad. Otras condiciones necesarias para el TMA son las siguientes:

- La rodilla debe presentar un grado de conservación mínimo sin lesiones condrales avanzadas.

- 
- Presentar la extremidad normo-alineada y normo-axada. En el caso de hallarnos ante un paciente con una desviación del eje de la extremidad, ésta debe ser corregida antes del trasplante.
 - La rodilla debe ser estable, o en caso de insuficiencia ligamentosa la misma debe corregirse quirúrgicamente antes o durante el mismo acto quirúrgico del trasplante meniscal.

Como contraindicaciones absolutas se incluyen un estado de inmunodeficiencia, o enfermedades metabólicas o sistémicas no controladas. La obesidad debe ser considerada una contraindicación también. Las enfermedades locales inflamatorias (artritis) o sépticas deben contraindicar el trasplante.

Los pacientes con esqueleto inmaduro presentan una contraindicación relativa o al menos deben considerarse con prudencia ya que no se han realizado estudios con la suficiente evidencia científica en este grupo poblacional.

2.6. Evaluación Radiográfica y Tamaño del Injerto

El injerto meniscal a trasplantarse debe ser del mismo tamaño, lado y compartimento que el menisco a reemplazar. Biomecánicamente se ha demostrado la ineficacia de un menisco excesivamente grande ya que produce pérdida de cohesión con el cóndilo femoral⁴⁵. Incluso se ha demostrado experimentalmente que una discrepancia de tan sólo el 10% del tamaño del injerto debe ser lo máximo tolerable⁸⁷.

En la literatura se han descrito múltiples técnicas preoperatorias para la predicción del tamaño del injerto meniscal⁸⁸⁻⁹³. McDermott et al.⁴⁵ mostraron como esta predicción del tamaño del injerto se puede realizar a partir del tamaño del platillo tibial. Un ejemplo ampliamente utilizado de esto es el método descrito por Pollard et al.⁹. Para la realización del mismo son necesarias proyecciones radiográficas simples antero-posterior y lateral de rodilla. El ancho del menisco medial se mide desde la espina tibial medial al margen de la metáfisis tibial medial y el ancho del menisco lateral desde la

espina tibial lateral a la periferia de la metáfisis tibial lateral (Figura 19). Para medir la longitud o medida anteroposterior del injerto se utiliza la proyección radiográfica lateral. La longitud del menisco medial corresponde al 80% de la distancia de la meseta tibial, en corte sagital, medida en la unión entre una línea paralela a la tibia anterior por encima de la tuberosidad y una línea tangente al margen posterior de la meseta tibial, siempre perpendicular a la línea articular. Del mismo modo la longitud del menisco lateral corresponde al 70% de la misma distancia (Figura 19).

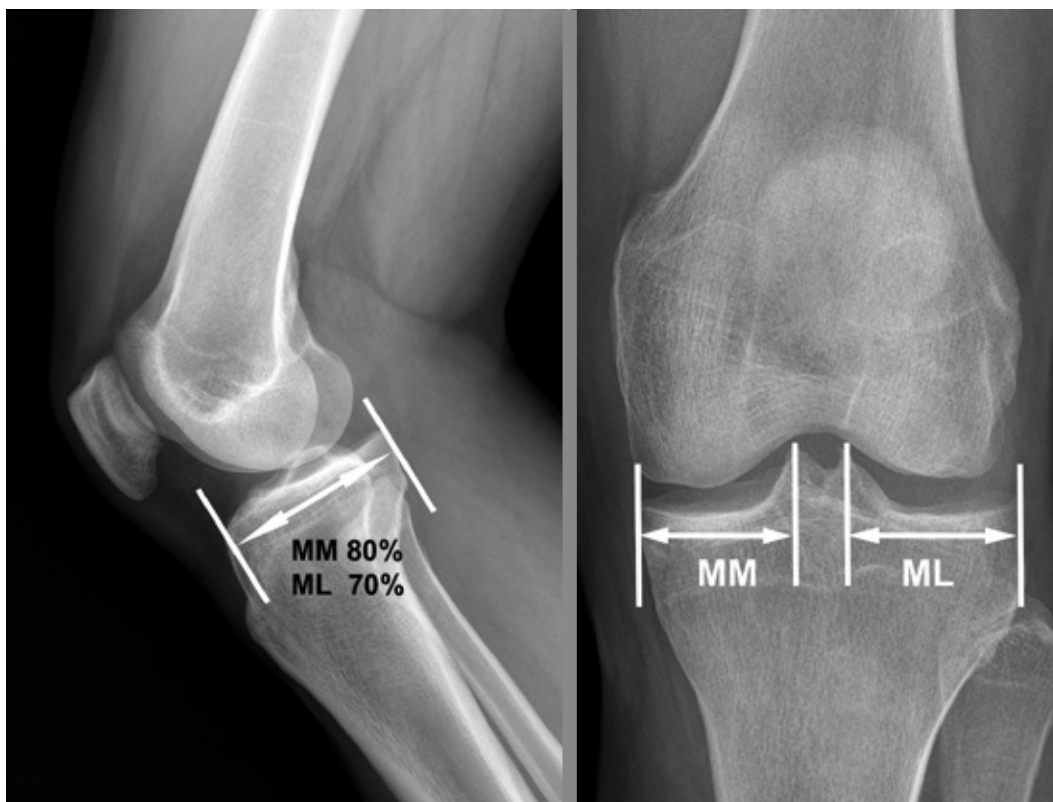
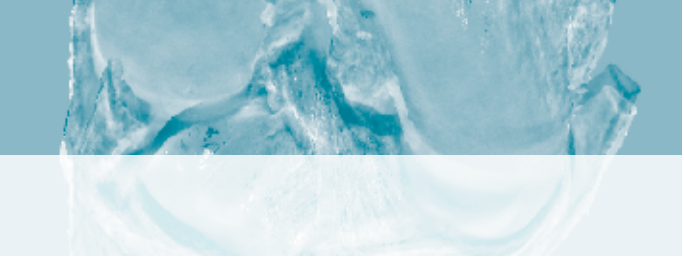


Fig 19.

Imágenes radiográficas de perfil (izquierda) y frente (derecha) en que se muestra el método descrito por Pollard⁹¹ para la predicción del tamaño del injerto meniscal. Se puede observar la diferencia de medición entre el menisco medial (MM) y el menisco lateral (ML).

2.7. Tipo de Injerto Meniscal

Una parte importante del beneficio del trasplante meniscal subyace en la óptima preservación de la biología, bioquímica, biomecánica e integridad del tejido meniscal injertado. Para ello es muy importante la forma en que el injerto es conservado desde su



toma en el donante hasta su implantación en el receptor. Existen diversas técnicas de preservación del injerto. Inicialmente la técnica más utilizada era la liofilización de los injertos que produce la destrucción de todos los enzimas y antígenos, quedando sólo una maya de colágeno que puede ser usada de matriz para los fibrocondrocitos. Sin embargo, es una técnica abandonada debido a generar con gran frecuencia un proceso inflamatorio-degenerativo conocido como *shrinkage* o retracción del tamaño del injerto. Algo similar es lo que sucede con la irradiación de los injertos con radiación gamma, ya que redundaría en una disminución de las cualidades mecánicas del implante meniscal^{94,95}.

El injerto meniscal más utilizado es el que se mantiene congelado, dada su simpleza y accesibilidad. Se realiza simplemente su congelación a -80°C facilitando así el proceso de almacenaje, pero con la desventaja que esto conduce a la destrucción del componente celular del injerto. En contra de lo previamente establecido, Gelber et al.²⁴ demostraron que la congelación también altera la red de colágeno meniscal. Estos conceptos son también apoyados por el trabajo de Lewys et al.⁹⁶ quienes comprobaron que los ciclos de congelación merman las cualidades biomecánicas y bioquímicas de un menisco.

La criopreservación usando dimetil-sulfoxida o glicerol como preservantes que previenen la formación de cristales intracelulares encarece el proceso considerablemente. Además, la criopreservación, sí ha demostrado su superioridad frente a la congelación simple en trabajos de laboratorio²³, pero esto no ha sido traducido hasta el día de la fecha en resultados que denoten una mejoría clínica apreciable.

También se puede usar glutaraldehído para la preservación del injerto, aunque ésta técnica ha mostrado peores resultados y mayor rigidez del implante^{97,98}. Por último, el injerto en fresco parece ser el ideal ya que además de preservar intacta la red colágena, es el que mantiene el mayor número de células vivas. Pero no sólo esto, sino que estas células vivas conservan su capacidad biológica y de síntesis metabólica, factor diferenciador de esta técnica con respecto a todas las otras^{11,99}. Sin embargo, a día de

hoy no hay consenso de cual debe ser el método de preservación a utilizar, ya que no existe evidencia de que el coste adicional de la criopreservación o implantación en fresco obtengan mejores resultados clínicos que los injertos congelados simples.

2.8. Fijación del Injerto

Se debe prestar especial atención en el correcto anclaje del injerto meniscal en su localización anatómica, ya que se ha demostrado que si la inserción del asta anterior y posterior del injerto meniscal no se restituye con precisión existe un mayor riesgo de fracaso del trasplante^{51,100}. Sekaran et al.¹⁰¹ demostraron que una incorrecta colocación del asta posterior del injerto aumenta la fuerza de presión que debe soportar el injerto en todos los grados de flexión. Además, estudios en animales han demostrado que un incorrecto posicionamiento del injerto meniscal trasplantado comporta mayores cambios degenerativos en el cartílago^{102,103}.

Por todo ello, los distintos tipos de fijación del injerto meniscal se basan en el preciso posicionamiento del injerto en su localización anatómica sobre el platillo tibial. De este modo hay técnicas de fijación mediante suturas aisladas, en combinación con tacos óseos en ambas astas meniscales o en combinación con una barra ósea que une el asta anterior y posterior del injerto (Figura 20).

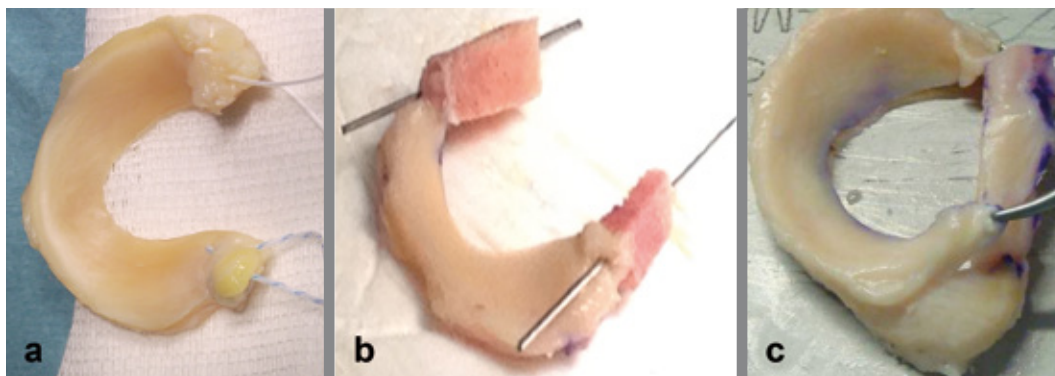
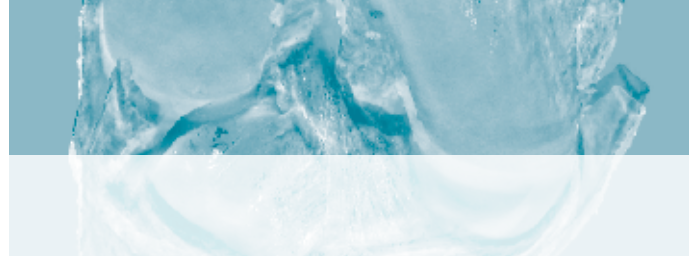


Fig 20.

Injertos meniscales preparados para ser implantados según las diferentes técnicas existentes. A la izquierda, con técnica de fijación mediante suturas aisladas (a); en el centro (b) tacos óseos en ambas astas meniscales; a la derecha (c) con una barra ósea uniendo ambas astas meniscales.



La utilización de tacos óseos (uno situado en el asta meniscal anterior y otro en el asta meniscal posterior) favorece la integración del hueso de la tibia con el taco óseo del injerto confiriendo una buena estabilidad primaria y una precoz estabilidad secundaria del injerto. No obstante se debe tener presente que los injertos con taco óseo tienden a ser más antigénicos debido a su componente óseo¹⁰⁴.

Para la correcta realización de un trasplante meniscal se debe preparar el lecho meniscal del huésped. Para ello es necesario el desbridamiento de la zona cicatricial o tejido meniscal remanente. El siguiente paso debe ser utilizar alguna de las múltiples técnicas de estimulación vascular para las reparaciones meniscales, de modo que se genere una zona bien vascularizada preparada para recibir el margen lateral del injerto. Este paso es muy importante para obtener una correcta integración del injerto.

La técnica quirúrgica de fijación del injerto mediante fijación ósea o fijación con suturas se explica dentro del apartado material y métodos de cada artículo que conforma ésta tesis.

Como conceptos generales se establece que la fijación con suturas es de especial ayuda en aquellos casos en los que el tamaño del injerto es mayor de lo necesario ya que las suturas situadas en el asta anterior y posterior hacen que se pueda introducir parcialmente el injerto dentro de los túneles de anclaje, modificando así el tamaño final del injerto y facilitando la fijación del mismo. En cambio, los tacos óseos aportan una mejor integración del injerto (hueso tibial con hueso del taco) pero el tamaño del injerto queda más comprometido. Por último con la fijación mediante barra ósea el tamaño del injerto debe ser muy acertado para evitar sobredimensionado anteroposterior del mismo.

Todo esto debe venir acompañado, tal cuál fue reseñado previamente, de una correcta congruencia entre el tamaño del injerto y el platillo tibial receptor^{51,53,90,105}.

2.9. Concepto de Extrusión Meniscal

Se considera extrusión meniscal la situación en la que una proporción variable de tejido meniscal se encuentra luxada o subluxada (Figura 21) por fuera de la superficie articular de la tibia¹⁰⁶. Se ha reportado en la literatura que un cierto grado de extrusión meniscal es normal dentro del proceso degenerativo de la rodilla¹⁰⁷, pero no queda clara la relación entre extrusión meniscal y los cambios producidos por un TMA.



Fig 21.

Imagen por resonancia magnética donde se evidencia la extrusión del injerto mas allá del límite de la meseta tibial (flecha).

Autores como Costa et al.¹⁰⁸ aceptan que extrusiones mayores a 3mm comportan cambios artrósicos secundarios, pero el porcentaje ó límite de extrusión que puede considerarse normal sigue en debate. El porcentaje de pacientes trasplantados en los que se encuentran extrusiones suprafisiológicas del injerto también presenta valores diversos en la literatura. Este porcentaje en las diferentes series va de un 42,1% en el trabajo de Jeong et al.¹⁰⁹, pasando por un 59% en la serie de Noyes et al.⁵ o un 70,6% en la serie de Verdonk et al.¹⁷ hasta un 87,5% en la serie de van Arkel et al.¹¹⁰.



3. HIPÓTESIS DE TRABAJO

La hipótesis de trabajo de esta tesis se basa en tres estudios relacionados con el trasplante meniscal alogénico realizados por nuestro grupo científico.

El primer estudio (Abat F, Gelber PE, Erquicia J, Tey M, Gonzalez-Lucena G, Monllau JC. *Prospective comparative study between two different fixation techniques in meniscal allograft transplantation. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2013 Jul;21(7):1516-22) reporta los resultados clínicos obtenidos con el trasplante meniscal alogénico comparando el anclaje del mismo mediante fijación con suturas aisladas o en asociación con la fijación ósea.

Seguidamente se presenta el segundo trabajo (Abat F, Gelber PE, Erquicia J, Pelfort X, Gonzalez-Lucena G, Monllau JC. *Suture-Only Fixation Technique Leads to a Higher Degree of Extrusion Than Bony Fixation in Meniscal Allograft Transplantation. Am J Sports Med.* 2012 Jul;40(7):1591-6), el cual es hasta el día de la fecha la primera investigación existente en la literatura que muestra la relación entre el grado de extrusión del injerto meniscal y la técnica empleada para la fijación del mismo.

Por último se presenta el tercer trabajo (Gelber PE, Torres R, Garcia-Giralt N, Erquicia J, Abat F, Monllau JC. *Host serum is not indispensable in collagen performance in viable meniscal transplantation at 4-week incubation. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2012 Sep;20(9):1681-8) que valora la estructura tisular del injerto meniscal en términos de metabolismo celular y la estructura de la red colágena comparando el medio de cultivo estándar para su preservación, suplementado con suero fetal bovino que simula el suero del receptor, y un medio de cultivo genérico suplementado con Insulin-tranferrin-selenio.

Hipótesis del trabajo 1

Los resultados obtenidos con la fijación del injerto meniscal mediante suturas obtendrán resultados clínicos y funcionales similares a aquellos fijados mediante soporte óseo, presentando a su vez una tasa de complicaciones similares.

En: Abat F, Gelber PE, Erquicia J, Tey M, Gonzalez-Lucena G, Monllau JC. Prospective comparative study between two different fixation techniques in meniscal allograft transplantation. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2013 Jul;21(7):1516-22.

Hipótesis trabajo 2

El grado de extrusión del injerto meniscal será mayor en aquellos trasplantes meniscales fijados sólo mediante suturas.

En: Abat F, Gelber PE, Erquicia J, Pelfort X, Gonzalez-Lucena G, Monllau JC. Suture-Only Fixation Technique Leads to a Higher Degree of Extrusion Than Bony Fixation in Meniscal Allograft Transplantation. *Am J Sports Med.* 2012 Jul;40(7):1591-6.

Hipótesis trabajo 3

Hipótesis principal: suplementar el medio de preservación del injerto con Insulin-tranferrin-selenio mantiene la estructura colágena meniscal y viabilidad celular.
Hipótesis secundaria: esta capacidad de preservación será comparable con la obtenida con el suero fetal bovino.

En: Gelber PE, Torres R, Garcia-Giralt N, Erquicia J, Abat F, Monllau JC. Host serum is not indispensable in collagen performance in viable meniscal transplantation at 4-week incubation. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2012 Sep;20(9):1681-8.



4. MATERIAL Y MÉTODO

El apartado material y método de este trabajo de tesis doctoral, se corresponde con lo reportado en cada uno de los trabajos de investigación que conforman la misma.

TRABAJO n.1: Abat F, Gelber PE, Erquicia J, Tey M, Gonzalez-Lucena G, Monllau JC. *Prospective comparative study between two different fixation techniques in meniscal allograft transplantation. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2013 Jul;21(7):1516-22.

Se realizó un estudio prospectivo en 88 pacientes tratados consecutivamente entre 2001 y 2008. Todas las cirugías fueron realizadas por el mismo consultor sénior del equipo. El comité ético de nuestra institución aprobó el estudio (10/090/1129) y todos los pacientes incluidos firmaron un consentimiento informado para su inclusión en el mismo.

Los primeros 33 pacientes recibieron un trasplante meniscal alogénico fijados sólo con suturas (Grupo A), mientras que a los siguientes 55 pacientes se les practicó un trasplante meniscal alogénico asociando fijación ósea (Grupo B).

El tiempo medio de seguimiento fue de cinco años, con un rango entre 2,5 y 10 años. Los criterios de inclusión y exclusión fueron los que se muestran en la *Tabla 1*.

Inclusión	Exclusión
- Dolor interlínea articular - Meniscectomía parcial/total previa	- Alteración eje mecánico extremidad inferior (>5º varo o >7º valgo) - Ahlbäck > grado II

Tabla 1: Criterios de inclusión y exclusión en el estudio n.1.

La serie a estudio la compusieron 32 mujeres (36%) y 56 hombres (64%). La edad media fue de 37,3 años, con un rango de entre 15 a 51 años. En cuanto a la lateralidad, 54 (61%) fueron rodillas derechas y 34 (39%) rodillas izquierdas. En cuarenta casos (45%) el trasplante meniscal se realizó en el compartimento medial y 48 (55%) en el

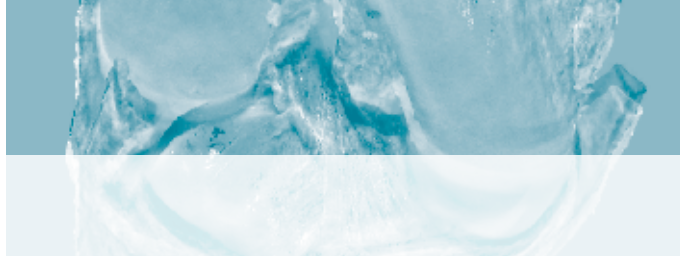
compartimento lateral. Ambos grupos a estudio (A y B) fueron comparables en las variables a estudio (Tabla 2).

Variable	Grupo A	Grupo B	Valor p.
Sexo (Hombre/Mujer)	27 %/73 %	40 %/60 %	n.s.
Edad (años)	38.8 ± 6.3	35.7 ± 7.9	n.s.
Rodilla (derecha/izquierda)	67 %/33 %	61 %/39 %	n.s.
Compartimento (medial/lateral)	42 %/58 %	46 %/54 %	n.s.
Numero de cirugías previas	1.5 ± 0.6	1.8 ± 0.7	n.s.
Tiempo desde meniscectomía (años)	11.2 ± 2.2	15.5 ± 3.8	n.s.
Rx Rosenberg pre-cirugía (mm)	3.2 ± 0.8	3.05 ± 1.1	n.s.
Lysholm pre-cirugía	65.4 ± 11.6	62.3 ± 9	n.s.
Tegner pre-cirugía	3 (1-6)	3 (1-7)	n.s.
Vas pre-cirugía	6.4 ± 2.2	6.7 ± 2.2	n.s.

Tabla 2: Valores demográficos y funcionales de ambos grupos a estudio. Mostrados como porcentaje, media ± desviación estándar o mediana (rango).

Trece pacientes (39%) fueron sometidos a cirugías concomitantes, siendo éstas en el Grupo A: 8 reconstrucciones del ligamento cruzado anterior, 8 microfracturas y 9 desbridamientos condrales. En el Grupo B, se realizaron: 10 reconstrucciones del ligamento cruzado anterior, 7 microfracturas, 3 casos en los que se tubo que retirar material de osteosíntesis previa (placas de Puddu para osteotomías) y dos casos de reparación del cartílago articular mediante tacos TruFit (Smith and Nephew, Andover, MA, USA).

La evaluación funcional se realizó mediante el test de Lysholm (con una puntuación de 0 a 100) así como la puntuación de Tegner. El dolor se evaluó mediante la escala analógica visual (EVA). La satisfacción obtenida por el paciente se evaluó mediante una escala subjetiva donde 4 es altamente satisfecho, 3 satisfecho, 2 neutro, 1 algo insatisfecho y 0 totalmente insatisfecho.



La evaluación radiográfica (Figura 22) se realizó mediante radiografías en bipedestación así como proyección de Rosenberg en 45° de flexión. El estudio del colapso articular se realizó mediante la medida de la menor distancia entre el cóndilo femoral y el platillo tibial en la proyección de Rosenberg. Esta medición se realizó con el software informático ePACS (5.0; Real Time Image, San Bruno, CA).

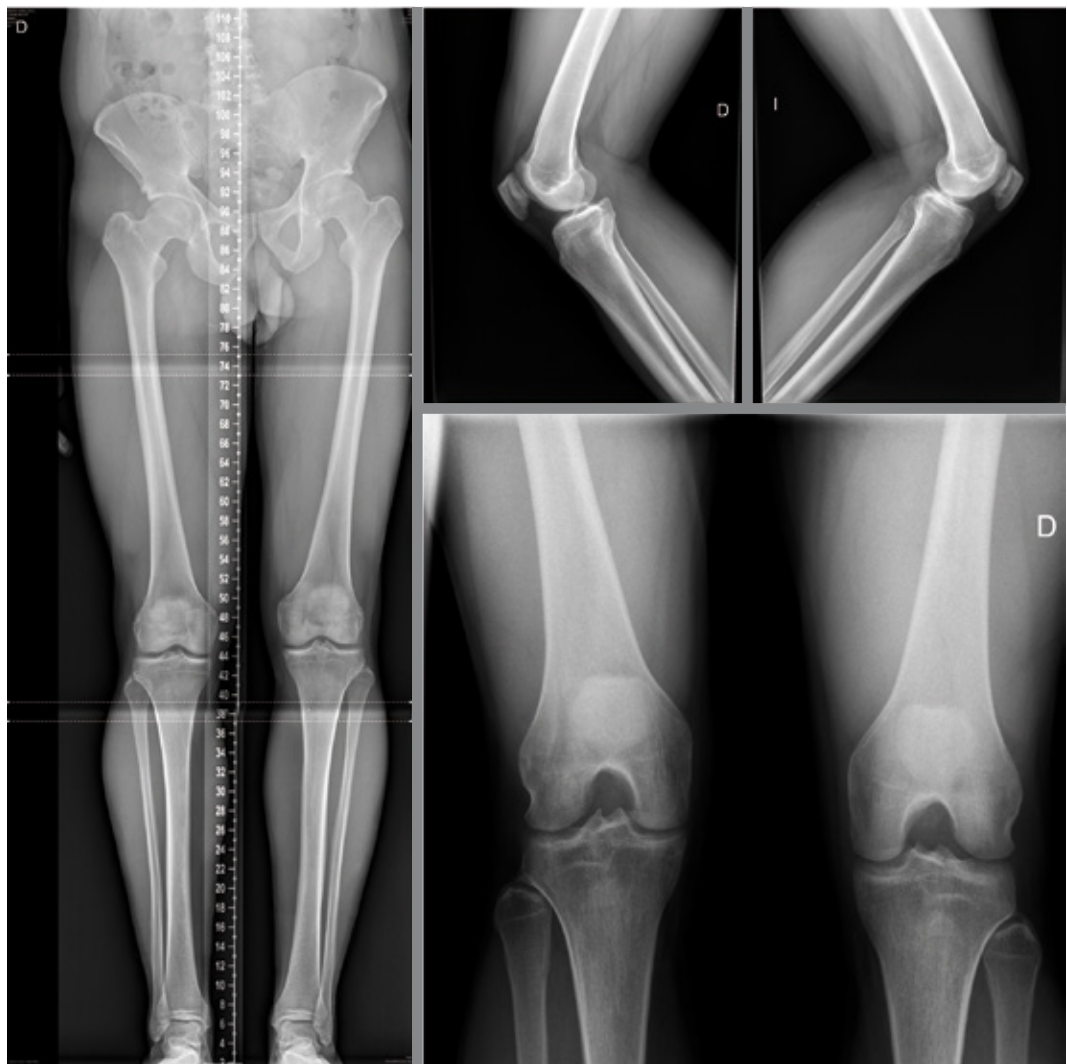


Fig 22.

Estudio radiológico requerido en cada paciente incluido en el estudio. Telemétricas de extremidades inferiores (a), de perfil (b) y de frente en carga a 30° de flexión.

Tanto la evaluación radiográfica como la funcional fue realizada por dos observadores independientes, ciegos para el tipo de fijación del injerto utilizada.



Se utilizaron injertos no irradiados frescos congelados (-80°C) sin correlación antigénica²⁴ (Figura 23). Todos los injertos fueron proporcionados por un banco de tejidos local autorizado. Para correlacionar las variables morfométricas entre el donante y el receptor se utilizó el método descrito por Pollard et al.⁹¹.



Fig 23.
Injerto fresco no irradiado congelado previamente a -80°C antes de la preparación para su implantación.

La técnica quirúrgica empleada en ambos grupos fue totalmente artroscópica. En ambos grupos se realizaron dos túneles de 6 mm de diámetro en la localización anatómica del asta anterior y posterior del menisco nativo en el platillo tibial. En el Grupo A, sendas suturas de alta resistencia del número 2 (FiberWire; Arthrex, Naples, FL o Ethibond; Ethicon, Somerville, NJ) fueron fijadas en cada asta del injerto mediante puntos de tipo Krackow (Figura 24). En los pacientes correspondientes al Grupo B, tras realizar los túneles de 6mm de diámetro y 10mm de largo se realizó un túnel transversal de 1,5mm en cada taco óseo en las astas del injerto. Seguidamente se pasó una sutura de FiberWire del número 2 a través de cada taco óseo (Figura 25). Se añadió una sutura vertical (con técnica de fuera a dentro) en la zona de unión del asta posterior

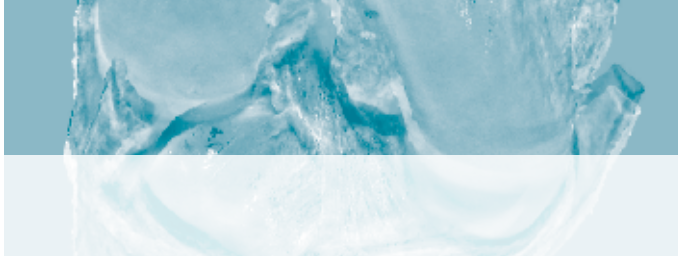


Fig 24.
Ejemplo de aloinjerto meniscal correspondiente a la técnica de fijación solamente con suturas. Se han colocado dos suturas de alta resistencia en cada asta mediante puntos de tipo Krackow. En el cuerpo del menisco se coloca una sutura vertical de tracción para facilitar la entrada y encaje del injerto en su posición final.



Fig 25.
Injerto preparado con la técnica de taco óseo. La sutura vertical en la unión del asta posterior y el cuerpo se utiliza a modo de tracción para facilitar su introducción y fijación posterior.

y el cuerpo del menisco en todos los injertos, para facilitar así la colocación posterior del mismo. Mediante la sutura del asta posterior y la vertical en el cuerpo del menisco (Figura 26) se consiguió posicionar el injerto en su localización anatómica (Figura 27).



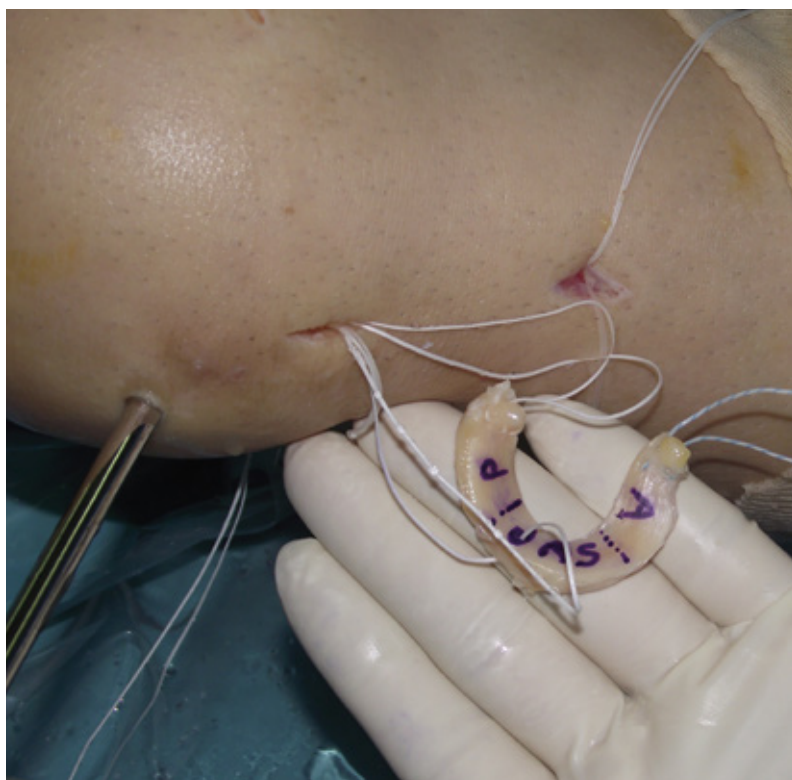


Fig 26. Imagen que muestra como las suturas colocadas en el asta posterior y en el cuerpo del menisco ayudan a la correcta introducción del injerto.

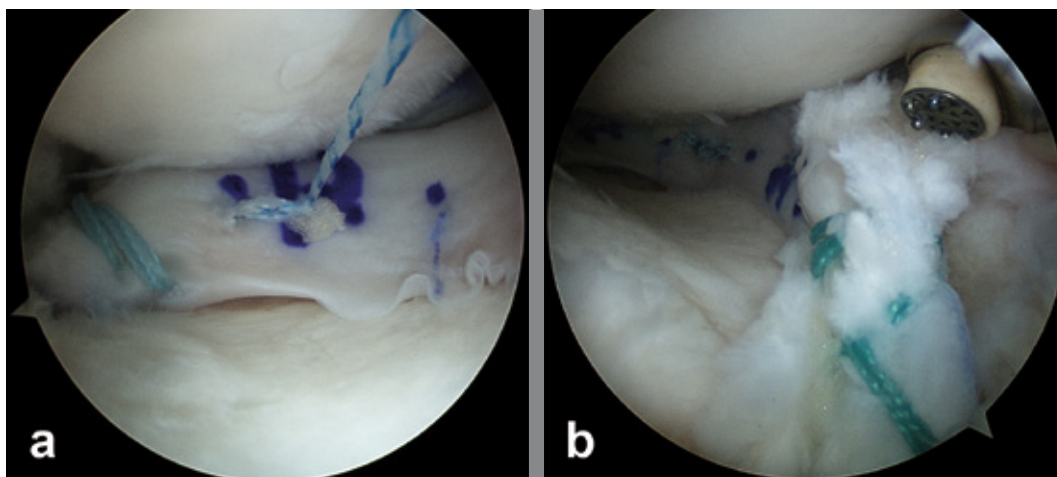


Fig 27. Visión artroscópica objetivando como la fijación del injerto mediante suturas colocadas en asta posterior (a) y anterior (b) acompañada de la tracción alterna de las mismas, proporciona mayor adaptabilidad a su localización anatómica.

La fijación del injerto a la capsula se realizó mediante suturas verticales de tipo dentro a fuera (SharpShooter; ConMed Linvatec, Largo, FL) o todo dentro (FasT-Fix; Smith and Nephew, Andover, MA) (Figura 28). Finalmente las suturas que pasaban a través de ambas astas meniscales y de los túneles tibiales, fueron anudadas en la cara anterior de la metáfisis tibial.



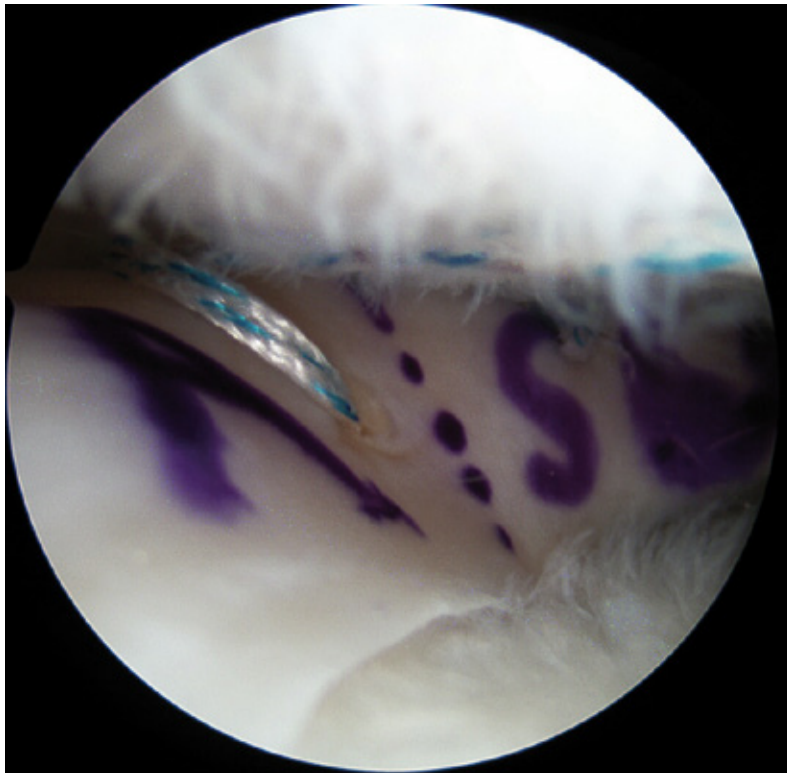
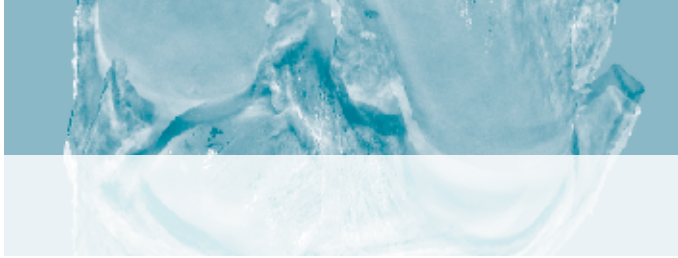


Fig 28.
Visión artroscópica durante el proceso de fijación de un injerto meniscal a la cápsula articular mediante suturas verticales.

El postoperatorio fue el mismo en ambos grupos a estudio. Se realizó carga parcial con rodillera inmovilizadora durante tres semanas. Posteriormente fue permitida la carga total hacia la sexta semana. La actividad normal fue conseguida cuatro meses tras la cirugía.

Análisis estadístico

Las variables categóricas fueron presentadas como porcentaje y frecuencia. Las variables continuas fueron descritas como media, máximo, mínimo y desviación estándar. La correlación entre los observadores fue analizada mediante el coeficiente de correlación intraclase (CCI). Se calculó así mismo el coeficiente de correlación de Pearson. Para asegurar la normal distribución de las variables entre los valores pre-operatorios y los post-operatorios, se realizó un estudio de Kolmogorov-Smirnov. La estadística inferencial se realizó mediante un test de *t*. En el caso de estudiar dos situaciones (por ejemplo compartimento medial versus compartimento lateral), se realizó un test de *t* de variables independientes. Para comparar los valores pre y post-trasplante se realizó un estudio de *t* de datos emparejados.



El nivel de significación fue del 5% (alfa = 0,05, $p < 0,05$). Para realizar este análisis estadístico se utilizó el software informático SPSS v.19 (SPSS Inc, Chicago, Illinois).

TRABAJO n.2: Abat F, Gelber PE, Erquicia J, Pelfort X, Gonzalez-Lucena G, Monllau JC. Suture-Only Fixation Technique Leads to a Higher Degree of Extrusion Than Bony Fixation in Meniscal Allograft Transplantation. *Am J Sports Med.* 2012 Jul;40(7):1591-6.

Se realizó un análisis de 88 trasplantes meniscales realizados en un periodo de 8 años entre 2001 y 2008. El criterio de inclusión fue que los pacientes sufrieran de síndrome postmenisectomía (Figura 29) y como criterio de exclusión se utilizó la artrosis avanzada (Ahlbäck superior a 2) y el mal alineamiento de la extremidad afectada. Aquellos

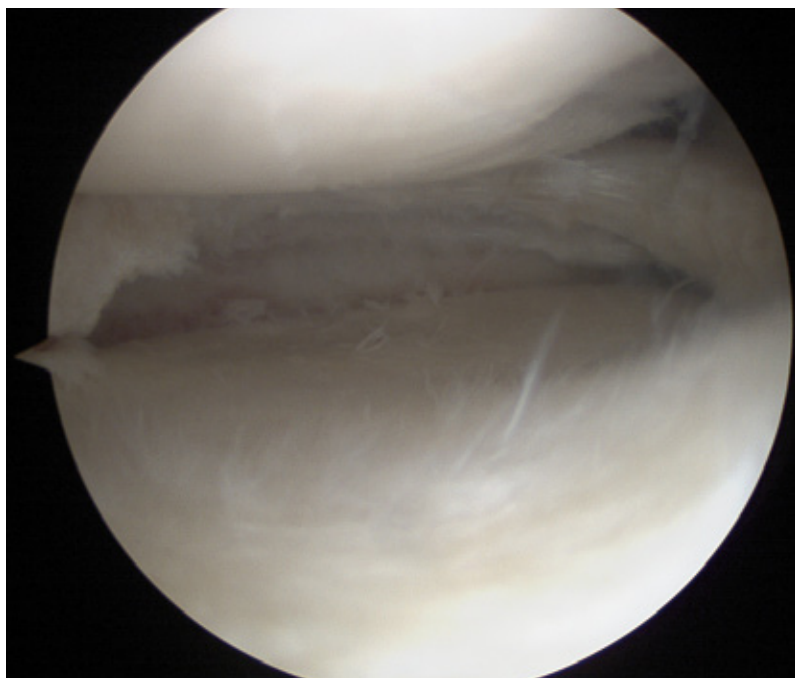
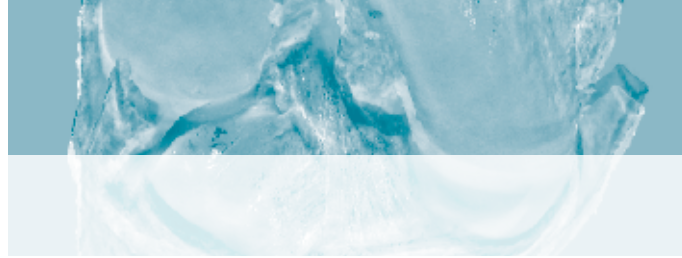


Fig 29.

Visión artroscópica del compartimento femorotibial medial mostrando una falta de protección del platillo tibial por una menisectomía realizada previamente.

pacientes que tenían un índice de masa corporal superior a 30 también fueron descartados. El comité ético de nuestra institución aprobó la investigación y los participantes firmaron un consentimiento informado para su inclusión en el presente estudio.

Las variables demográficas fueron las mismas que las presentadas en el trabajo n.1. y se formaron igualmente dos grupos: el A, con aquellos pacientes en quienes el injerto fue fijado sólo con suturas, y el B, con aquellos pacientes en quienes se realizó la fijación ósea.



Para la evaluación del grado de extrusión, todos los pacientes fueron sometidos a resonancia magnética (RM) de la rodilla intervenida en decúbito supino y con la rodilla en extensión. Se realizó la evaluación por RM antes de la cirugía y después de la misma entre los 36 y los 48 meses de seguimiento. Todos los estudios de RM se realizaron con un dispositivo superconductor magnético de 1,5-T (Prestige 2T, Elscint, Haifa, Israel). Las secuencias utilizadas para cada paciente fueron: Corte axial fast spin echo ponderada-T2 con saturación grasa (tiempo de repetición, 2300 msec; tiempo echo, 30msec; ángulo de vuelta, 90°; grosor del corte, 3mm; campo de visión, 20cm). Corte coronal fast spin echo ponderada intermedia (tiempo de repetición, 2500 msec; tiempo echo, 30msec; ángulo de vuelta, 90°; grosor del corte, 4mm; campo de visión, 18cm). Corte sagital fast spin echo ponderado en T2 con saturación grasa (tiempo de repetición, 2500 msec; tiempo echo, 85msec; ángulo de vuelta, 90°; grosor del corte, 4mm; campo de visión, 18cm).

Las RM obtenidas fueron evaluadas de forma individual por dos de los autores utilizando el software ePACS workstation (Centricity Enterprise Web V3.0, General Electric Healthcare, Milwaukee, Wisconsin). Los evaluadores eran ciegos para el tipo de fijación ya que tan sólo se les proporcionó una imagen en corte coronal donde se observaba el mayor grado de extrusión. Se evaluó el coeficiente de correlación intraclase, clasificando el mismo entre 0 (pobre) a 1(excelente).

Para la medición del grado de extrusión del injerto se utilizó el trabajo previo realizado por Puig et al.¹¹¹ donde la extrusión meniscal se evaluó en los cortes coronales con el uso de una escala específicamente diseñada. Generalmente esta imagen coronal coincide con los ligamentos colaterales¹¹². En primer lugar se hace una línea vertical en el margen medial o lateral del platillo tibial, donde se produce la transición tibial de horizontal a vertical. Seguidamente se traza una segunda línea perpendicular desde el margen del menisco (Figura 30). La longitud de esta línea define en milímetros la cantidad de menisco extruido. Basándonos en el estudio de Costa et al.¹⁰⁸ cuando la extrusión era menor de 3mm se consideraba “*minor*”, y cuando era mayor de 3mm se consideraba “*major*”. Para estandarizar los resultados se realizó una valoración por-



centual de los resultados en milímetros, calculando la proporción de menisco extruido con el total del tamaño meniscal.

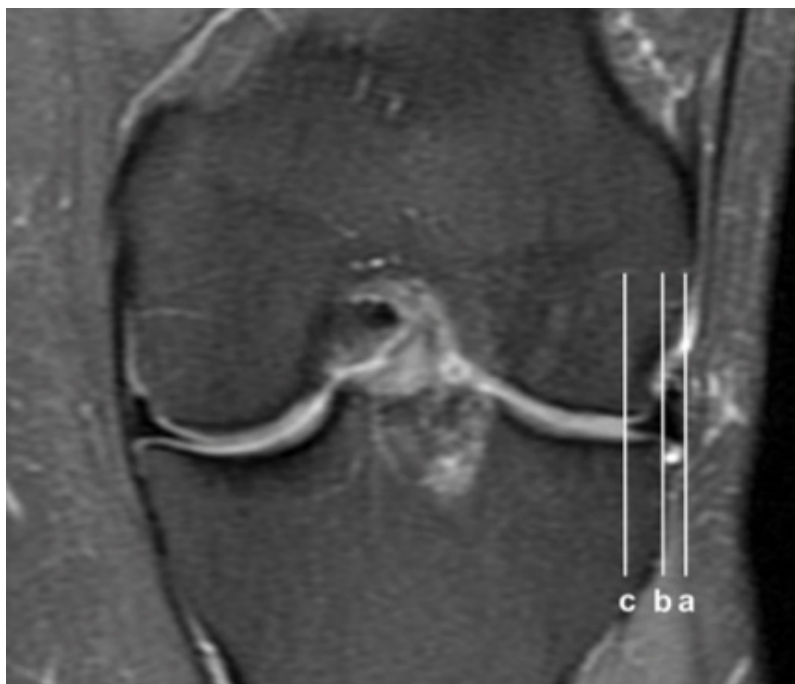
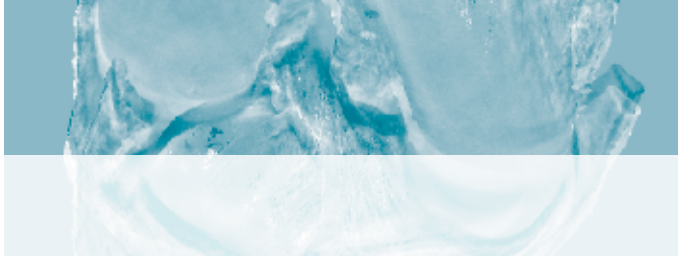


Fig 30.
Corto coronal de resonancia magnética donde se muestra el método descrito por Puig et al¹¹¹ para la medición del grado de extrusión del injerto.

La evaluación funcional se realizó mediante el cuestionario de Lysholm. Esta evaluación se realizó en cada punto del seguimiento ya que los pacientes rellenaban este cuestionario en cada visita. Esto permitió comparar los resultados en plazos fijos de tiempo y realizar una valoración entre los dos grupos. A su vez se realizó una valoración entre el grado de extrusión presentado en el trasplante y los resultados funcionales obtenidos. Por último se estudiaron los casos de rotura del injerto meniscal que requirieron intervención.

Análisis estadístico

Las variables continuas fueron descritas como media y desviación estándar mientras que las categóricas fueron presentadas como porcentaje y frecuencia. La concordancia interobservador se calculó utilizando el coeficiente de correlación intraclass, y en aquellos casos relevantes se calculó el 95% del intervalo de confianza. Se calculó el coeficiente de correlación de Pearson. La relación entre variables categóricas fue



descrita en tablas de contingencias. La inferencia fue estudiada mediante en test de Fisher o X^2 según correspondió. El grado de extrusión meniscal así como los resultados funcionales fueron comparados entre los dos grupos mediante la t de Student. Se utilizó un análisis de regresión lineal para determinar si existía relación entre extrusión meniscal y funcionalidad. La extrusión del compartimento medial y lateral fue definida como independiente. Los resultados de la regresión lineal múltiple se resumieron usando coeficientes de determinación y valores p ($p < 0,05$). Se utilizó el software informático SPSS v.19 (SPSS Inc, Chicago, Illinois), y el nivel de significación fue de 0,05.

TRABAJO n.3: Gelber PE, Torres R, Garcia-Giralt N, Erquicia J, Abat F, Monllau JC. Host serum is not indispensable in collagen performance in viable meniscal transplantation at 4-week incubation. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2012 Sep;20(9):1681-8.

Se obtuvieron 10 meniscos laterales humanos durante procedimientos de artroplastia de rodilla realizadas en genu varo artrósicos. Seis fueron mujeres y 4 hombres. La edad media fue de 70 años (entre 64 y 79 años). Cinco meniscos fueron de rodillas derechas y 5 de rodillas izquierdas. Se realizaron estudios radiográficos y se verificaron intraoperatoriamente la indemnidad del compartimento fémoro-tibial lateral. Los criterios de exclusión fueron:

- Casos con más del 50% de colapso del compartimento lateral (detectado en la radiografía en bipedestación en 45º postero-anterior).
- Degeneración macroscópica, presencia de calcificaciones (*Figura 31*) o cultivo bacteriano positivo al analizar el menisco.

Dado que la concentración celular y de colágeno varía dependiendo de la zona del menisco³⁷ se utilizó solamente la región central del menisco. Esta porción central se dividió en 6 partes bajo condiciones estériles. Una de estas porciones se seccionó en laminas de 1mm³ y se preservó en una solución al 2% de glutaraldehído. En un plazo máximo de dos horas, el patólogo preparó la muestra para su análisis con micros-



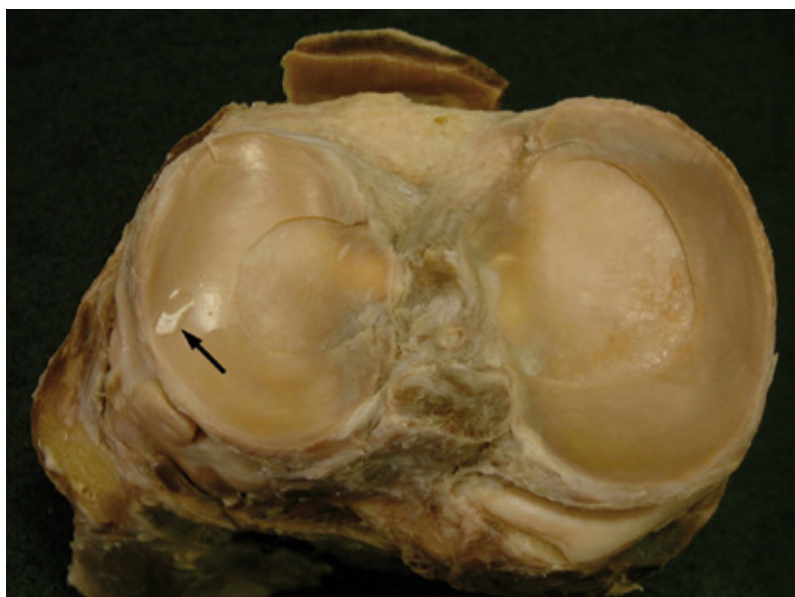
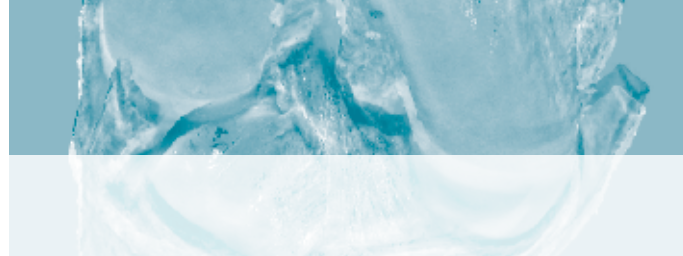


Fig 31. Preparación anatómica mostrando calcificación meniscal (flecha). Imagen cedida por el Prof. Alfonso Rodríguez Baeza, Departamento de Ciencias Morfológicas, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB).

copia electrónica de transmisión (MET). Los restantes cinco fragmentos de menisco fueron depositados en un receptáculo estéril con medio DMEM (Dulbecco modified Eagle's medium) y remitidos al laboratorio.

Una pieza de cada menisco fue triturada e incubada durante una hora tras la extracción con *RNAlater* (Qiagen) a 4°C durante toda la noche y posteriormente criopreservada a -80°C. Una porción se reservó para ser usada como grupo control y las otras cuatro se introdujeron en un tubo de 15ml de polietileno. Se añadió medio de cultivo DMEM y se suplementó al 20% con Insulin-Transferrin-Selenio (ITS) y 50 µg/ml de ácido ascórbico a 37°C en una humedad atmosférica de CO₂ del 5% durante 28 días. El medio de cultivo se cambió cada 3-4 días. Dos de las secciones fueron usadas para la cuantificación de ARN. Una muestra se cultivó en medio suplementado con suero fetal bovino y otra muestra en ITS.

Para la cuantificación del ARN las muestras fueron suspendidas en 1ml de Tri-Reagent (Molecular Research Center, inc.) y homogenizadas usando un homogenizador T8 Ultra-Turrax (IKA). Se utilizaron 7 µl del ARN para sintetizar el ADN según el protocolo *TaqMan® Reverse Transcription Reagents* (Applied Biosystem, Foster City, USA). Se diluyó la solución a la mitad con agua pura *RNAse-free* y 1 µl de la solución resultante



se usó para la determinación de la expresión génica, del agregano (AGC), colágeno tipo I (Col I) y colágeno tipo II (Col II) mediante el estudio cuantitativo *PCR real-time* siguiendo las instrucciones del fabricante (Applied Biosystems). El resultado de este estudio se analizó mediante el software SDS TM 2.3 (Applied Biosystems). Todos los análisis de PCR se realizaron por triplicado.

Para el estudio mediante microscopía electrónica de transmisión de la arquitectura meniscal colágena se usó la escala Arquitectura Colágena Meniscal (*Collagen Meniscal Architecture -CMA-*) descrita por Gelber et al.^{24,25}. Para ello 40mm³ de cada sección meniscal fueron analizadas mediante MET (Philips CM100, Holanda).

Un observador independiente realizó las mediciones sobre 400 fibras de colágeno en secciones transversales y longitudinales de cada menisco (*Figura 32*). Las fotografías a analizar se realizaron con una magnificación de 19.000x. Para el análisis realizado por el observador se utilizó un calibrador electrónico digital (ProMax, Fowler, USA en rango 0-150mm, resolución 0,02mm) y posteriormente multiplicado por 19.000 para obtener la correspondiente medida en nanómetros.

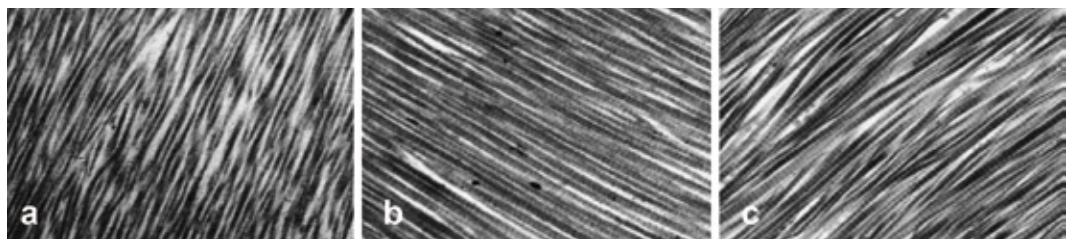


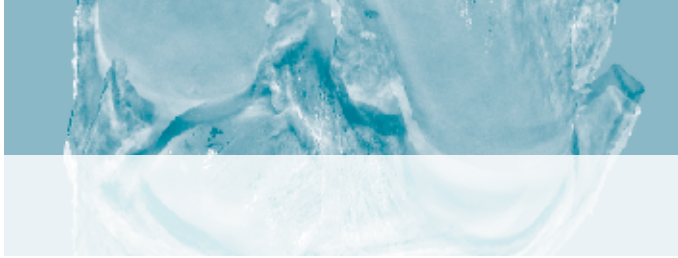
Fig 32.

Imágenes de tejido meniscal obtenidas mediante microscopía electrónica de transmisión. Las secciones cultivadas muestran un aumento en el diámetro de las fibras de colágeno. A la izquierda (a) se observa el grupo control, en el centro (b), una sección del grupo cultivado con un suplemento al 20% de suero fetal bovino y a la derecha (c), sección meniscal de un menisco cultivado con un suplemento al 1% de Insulin-Transferrin-Selenio.

Siguiendo la escala *Collagen Meniscal Architecture*²⁴ se clasificaron los meniscos entre 0 y 7 puntos. El grado I o normal fueron los que obtuvieron de 0 a 2 puntos, intermedio (grado II) de 3 a 4 puntos y desestructuración severa (grado III) aquellos con puntuaciones de 5 a 7.

Análisis estadístico

Las variables de viabilidad celular se presentaron como media y desviación estándar, mínimo, máximo y sus percentiles 25 y 75. Se realizó una comparación mediante un test no paramétricos de Wilcoxon. Seguidamente se realizó una ANOVA con comparaciones múltiples de Tukey para las mediciones de la ultraestructura colágena. Se utilizó el software SPSS 15 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, EE. UU.) y el nivel de significación estadístico se estableció en 0,05.



5. RESULTADOS

El apartado de resultados se corresponde con lo reportado en cada uno de los trabajos de investigación que conforman esta tesis.

TRABAJO n.1: Abat F, Gelber PE, Erquicia J, Tey M, Gonzalez-Lucena G, Monllau JC. Prospective comparative study between two different fixation techniques in meniscal allograft transplantation. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2013 Jul;21(7):1516-22.

Todos los pacientes (n=88) fueron seguidos durante una media de 5 años (2,5-10 años). Se obtuvo una mejoría en las puntuaciones del Lysholm, Tegner y EVA (Tabla 3). El Lysholm pasó de $65,4 \pm 11,6$ a $88,6 \pm 7$ en el Grupo A y de $62,3 \pm 9$ a $91,2 \pm 6,9$ en el Grupo B ($p = 0,04$). De igual modo el Tegner mejoró pasando de un valor medio 3 (1-6) a 6 (3-8) en el Grupo A y de 3 (1-7) a 6 (2-9) en el Grupo B. Esta mejoría no mostró diferencias entre los dos grupos a estudio. El dolor medido con la EVA bajó una media de 4,9 puntos en el Grupo A y 5,8 en el Grupo B. La satisfacción percibida por el paciente tras el trasplante presentó un valor medio de $3,7 \pm 0,3$ puntos sobre un máximo de 4. La evaluación radiográfica en proyección de Rosenberg no mostró colapso articular tras el procedimiento (Tabla 3).

VARIABLES	GRUPO A	GRUPO B	valor p.
Lysholm (pre-post)	$65,4 \pm 11,6$ – $88,6 \pm 7$	$62,3 \pm 9$ – $91,2 \pm 6,9$	$p > 0,05$
Tegner (pre-post)	3 (1-6)–6 (3-8)	3 (1-7)–6 (2-9)	$p > 0,05$
VAS (pre-post)	$6,4 \pm 2$ – $1,5 \pm 1,2$	$6,7 \pm 2$ – $0,9 \pm 1,3$	$p > 0,05$
Colapso articular en Rx (mm, pre-post)	$3,2 \pm 1,2$ – $3,2 \pm 1,9$	$3,1 \pm 1,5$ – $3,5 \pm 1,5$	$p > 0,05$
Satisfacción	$3,6 \pm 0,2$	$3,8 \pm 0,2$	$p > 0,05$

Tabla 3: Comparación de los resultados funcionales y radiográficos entre los dos grupos a estudio. Los valores del Tegner se muestran como media (rango), el resto se muestran como media \pm desviación estándar.



La valoración de la correlación intraobservador se calificó como excelente tanto al analizar el coeficiente de correlación intraclase (0,89) como el coeficiente de correlación de Pearson (0,91). El análisis del resto de variables a estudio no mostró diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos a estudio. Esta ausencia de diferencias estadísticas se mantuvo cuando se analizaron los resultados según el compartimento de la rodilla intervenido (Tabla 4).

	Grupo A		Grupo B		valor p.
	Medial	Lateral	Medial	Lateral	
Lysholm	88,4 ± 7,5	89±9,2	89,2 ± 7,4	93,2 ± 6,2	n.s
Tegner	6 (3-8)	6 (3-8)	6 (3-9)	7 (1-9)	n.s
EVA	1,4 ± 1,5	1,8 ± 1,3	0,9 ± 1,1	0,9 ± 1,4	n.s
Satisfacción	3,6 ± 0,31	3,5 ± 0,5	3,8 ± 0,4	3,7 ± 0,5	n.s

Tabla 4: Resultados funcionales, de dolor y satisfacción tras el trasplante meniscal comparando compartimento medial y lateral. Los valores del Tegner se muestran como media (rango), el resto se muestran como media ± desviación estándar.

Once pacientes del Grupo A presentaron complicaciones postoperatorias (33%). Dos de ellos presentaron rigidez articular por fibrosis, que requirió artrolisis artroscópica. Dos pacientes desarrollaron artritis séptica requiriendo desbridamiento artroscópico y antibioticoterapia durante 6 semanas. En estos 4 casos el trasplante permaneció viable por lo que no se retiró. En los restantes 7 casos (21,4%) se produjo una rotura del injerto meniscal que requirió revisión artroscópica. Cuatro casos presentaron pérdida de fijación del injerto requiriendo nueva fijación y en tres casos los injertos tuvieron que ser retirados. Esto representa una tasa de fallo del injerto del 9% (3 de 33 pacientes).

En el Grupo B se presentaron complicaciones en 9 casos. Estas fueron 3 casos de rigidez articular y 2 infecciones que se solucionaron igual que los casos antes descritos, siendo viables los 5 injertos tras el tratamiento. Se presentaron 4 casos de rotura del injerto (7,3%). Dos casos fueron tratados mediante reanclaje del injerto y 2 más tuvie-

ron que ser retirados. Esto representa una tasa de fallo del injerto del 3,6% (2 de 55 casos). A pesar de ser importante clínicamente la diferencia que se muestra entre el Grupo A y el Grupo B en cuanto a tasa de fallo del injerto no resultó estadísticamente significativa.

TRABAJO n.2: Abat F, Gelber PE, Erquicia J, Pelfort X, Gonzalez-Lucena G, Monllau JC. *Suture-Only Fixation Technique Leads to a Higher Degree of Extrusion Than Bony Fixation in Meniscal Allograft Transplantation. Am J Sports Med. 2012 Jul;40(7):1591-6.*

No hubo pérdida de ninguno de los pacientes durante el estudio. Según los criterios de extrusión mencionados en el apartado material y métodos se presentaron 47 casos (53,4%) de extrusión *minor* ($2,31 \pm 0,52$ mm) y 41 (46,6%) de extrusión *major* ($3,85 \pm 0,64$ mm). El Grupo A mostró un 72,2% de injertos con extrusión *major* mientras que el Grupo B sólo presentó 30,9% de los casos con extrusión *major* (Tabla 5). Estas diferencias resultaron estadísticamente significativas ($p < 0,001$).

Grado Extusión	Grupo A	Grupo B	valor p.
Minor	9 casos (27,3%)	38 casos (69,1%)	< 0,001
Mayor	24 casos (72,7%)	17 casos (30,9%)	< 0,001

Tabla 5: Diferencias en extrusión del injerto *minor* y *major*, entre los dos grupos en estudio. Valores expresados como número de casos y porcentaje.

Cuando estudiamos el porcentaje de tejido meniscal extruido (Tabla 6), se observó en el Grupo A un $36,3\% \pm 13,7\%$ sin diferencias entre el compartimento medial ($35,9\% \pm 18,1\%$) y el lateral ($38,3\% \pm 14,4\%$). El Grupo B presentó un porcentaje de extrusión del $28,13\% \pm 12,2\%$, sin presentar tampoco diferencias entre el compartimento medial ($25,8\% \pm 16,2\%$) y el lateral ($30,14\% \pm 13,5\%$). Cuando se realizó la valoración entre el grado de extrusión del injerto con el tipo de fijación utilizado, se objetivó un porcentaje mayor de extrusión en el Grupo A en ambos compartimentos ($p < 0,001$).

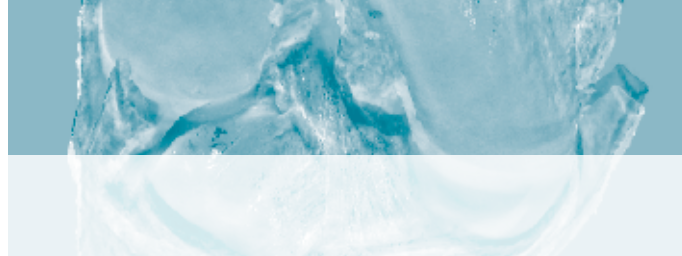
Extusión	Grupo A	Grupo B	valor p.
Global	36,3 ± 13,7	28,13 ± 12,2	< 0,001
Compartimento Medial	35,9 ± 18,1	25,8 ± 16,2	< 0,001
Compartimento Lateral	38,3 ± 14,4	30,14 ± 13,5	< 0,001

Tabla 6: Diferencias en el porcentaje de extrusión del injerto entre los dos grupos a estudio. Valores expresados como media ± desviación estándar.

Los resultados funcionales presentaron una mejoría del Lysholm con un valor al final del seguimiento de 88,6 ± 7 en el Grupo A y de 91,2 ± 7 en el Grupo B (p = 0,38). No se objetivó relación entre el grado de extrusión del injerto y los valores funcionales (p = 0,4), presentando un coeficiente de correlación de Pearson negativo de -1,117. Se observaron 7 roturas del injerto en el Grupo A (21%). Cuatro de ellas requirieron nueva fijación del injerto y en los 3 casos restantes tuvo que ser retirado, por lo que estos casos fueron excluidos del análisis de extrusión. Por otro lado, en el Grupo B sólo 4 injertos presentaron rotura (7,3%) tras un seguimiento mínimo de 40 meses (p = 0,09). Dos de estas roturas requirieron nueva fijación del injerto y las otras dos roturas obligaron a la completa retirada del aloinjerto. La correlación intraobservador fue excelente (0,89).

TRABAJO n.3: Gelber PE, Torres R, Garcia-Giralt N, Erquicia J, Abat F, Monllau JC. Host serum is not indispensable in collagen performance in viable meniscal transplantation at 4-week incubation. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2012 Sep;20(9):1681-8.

La Tabla 7 muestra los resultados estadísticos y descriptivos obtenidos con el análisis proteico de expresión génica (colágeno tipo I, II y agregano) en los tres grupos a estudio; cultivo control, y cultivos suplementado con FBS o ITS.



		Control	FBS	ITS	Valor p. Control Vs FBS	Valor p. Control Vs ITS	Valor p. FBS Vs ITS
AGG	Mean (SD)	1,4 (1,1)	1,3 (1,1)	1,3 (0,9)	>0,05	>0,05	>0,05
	Med (P25-P75)	1,3 (0,4-1,9)	1,3 (0,2-2,4)	1,2 (0,4-2,0)			
	Min-Max	0,2-4,0	0,0-2,7	0,0-3,1			
Col I	Mean (SD)	3,3 (4,5)	4,8 (4,2)	1,2 (1,1)	>0,05	>0,05	0,036
	Med (P25-P75)	1,5 (0,6-5,6)	5,3 (0,4-8,2)	1,0 (0,7-1,3)			
	Min-Max	0,2-13,0	0,1-10,8	0,1-4,0			
Col II	Mean (SD)	2,1 (2,4)	0,7 (1,3)	0,2 (0,5)	>0,05	0,012	>0,05
	Med (P25-P75)	0,7 (0,2-3,8)	0,0 (0,0-0,9)	0,0 (0,0-0,2)			
	Min-Max	0,0-7,3	0,0-4,1	0,0-1,4			

Tabla 7: Estudio de la viabilidad celular mediante expresión genética (unidad de expresión génica) de las tres proteínas extracelulares del menisco. Agregan (AGG), colágeno tipo I (Col I), colágeno tipo II (Col II) en los tres grupos a estudio. Control, cultivo meniscal suplementado con 20% de suero-fetal-bovino (FBS) y cultivo meniscal suplementado con 1% de Insulin-Transferrin-Selenio (ITS). Los valores p. se obtuvieron con test no paramétrico de Wilcoxon.

Dado que los resultados obtenidos presentaron gran variabilidad con notables desviaciones estándar, la comparación se llevó a cabo con las medianas y los percentiles. No se objetivaron diferencias en la comparación del agregano entre los tres grupos de cultivo. Se reportó diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,036$) en la expresión del colágeno tipo I entre el cultivo enriquecido con FBS y con ITS. No se encontraron diferencias cuando se compararon estos dos medios con el grupo control. Al analizar el colágeno de tipo II se objetivó una disminución importante de su expresión en ambos medios de cultivo.

En el estudio del tamaño de las fibras de colágeno se halló un incremento del mismo en los dos medios de cultivo a estudio al compararlo con el grupo control, tanto en los cortes longitudinales como en los transversales (Tabla 8). Este incremento resultó significativo ($p = 0,005$) en las secciones longitudinales del medio ITS y en las secciones transversales ($p = 0,002$) del medio FBS, con una tendencia al incremento de tamaño en ambas secciones en todos los casos.



	Transversal	Longitudinal
Grupo Control	14,4 ± 4,1	12,3 ± 3,8
ITS	14,6 ± 3,3	13,1 ± 3,8
FBS	15,3 ± 4,4	12,6 ± 3,3
valor p. Control Vs ITS	>0,05	0,005
valor p. Control Vs FBS	0,002	p>0,005
valor p. FBSI Vs ITS	0,025	p>0,005

Tabla 8: Mediana de los diámetros en nanómetros de las fibras de colágeno en cortes longitudinales y transversales en los diferentes medios de cultivo. Cultivo meniscal suplementado con 20% de suero-fetal-bovino (FBS) y cultivo meniscal suplementado con 1% de Insulin-Transferrin-Selenio (ITS). Valores p. obtenidos por comparación múltiple corregida de Tukey.

Siguiendo la puntuación de la escala CMA descrita anteriormente²⁴, 8 de las 10 muestras del grupo control fueron calificadas como grado I y las otras 2 como grado II. En los grupos de cultivo ITS y FBS, 7 de las 10 muestras calificaron como grado I y las restantes como grado II. No se encontraron diferencias en estas puntuaciones. El grupo control obtuvo una puntuación media de 1,5 puntos ± 0,7, el grupo FBS 1,7 ± 0,9 y el grupo ITS 1,9 ± 0,5. El coeficiente de correlación interclase entre observadores fue considerado moderado (0,529; IC del 95% = 0,346-0,854).



6. DISCUSIÓN

Se ha dividido la discusión en dos apartados. El primero de ellos se centra en los resultados clínicos obtenidos con el trasplante meniscal alogénico, agrupando los trabajos n.1 y n.2. El segundo apartado de la discusión desarrolla el tema de la viabilidad del injerto, resultados descritos en el trabajo n.3.

6.1. Resultados funcionales y extrusión del injerto del trasplante meniscal alogénico

El hallazgo más importante fue que no se observaron diferencias estadísticamente significativas en términos de dolor, funcionalidad y colapso articular entre la fijación del injerto meniscal sólo mediante suturas o asociado a fijación ósea. Por otro lado se constató un mayor porcentaje de extrusión del injerto en aquellos en que se utilizaron suturas como técnica de fijación.

Esto confirma la hipótesis inicial del primer trabajo (funcionalidad y dolor) y del segundo (grado de extrusión), pero refuta la segunda hipótesis del primer trabajo debido al alto número de complicaciones (aunque sin significación estadística) en el grupo en que la fijación se realizó sólo con suturas.

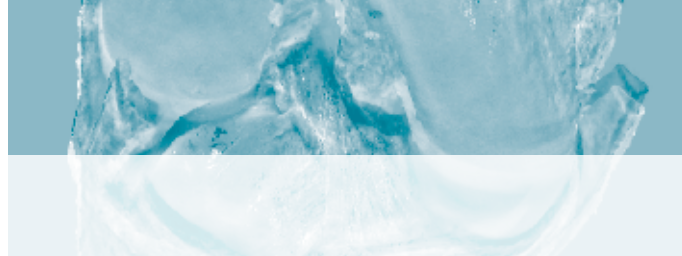
La principal diferencia que se halló entre los dos grupos estudiados fue que los injertos fijados con suturas presentaron 3 veces más complicaciones que cuando la fijación se realizó incluyendo soporte óseo. Aún así la literatura ha reportado una tasa de complicaciones que puede llegar hasta el 45% de los pacientes¹¹³. La complicación más frecuente tanto en la literatura como en la serie que forma parte de este estudio es la rotura del injerto. Una revisión sistemática realizada por Matava et al.¹¹⁴ situaba la tasa de rotura del injerto entorno al 8%. A pesar de que nuestra serie reportó una tasa global de rotura del 12,5%, si lo clasificamos por método de fijación del injerto, vemos como los fijados con taco óseo presentaron una tasa del 7,2%, muy inferior al 21,2% que presentaron aquellos trasplantes fijados con suturas. Esto podría corresponderse

con lo reportado por Stollsteimer et al.¹⁸, quienes mostraron la mayor estabilidad del implante cuando éste se realizaba con fijación ósea.

La infección, otra complicación importante y obviamente más temida, se ha reportado con una incidencia de alrededor del 5% en otros estudios², que es muy similar al 4,5% de infecciones que presentó la serie de este estudio. Afortunadamente, los injertos permanecen habitualmente viables a pesar de la artritis séptica, si se realiza un desbridamiento artroscópico intenso y precoz¹¹⁵.

Si nos fijamos en la tasa global de complicaciones, nuestra serie presenta un ratio del 22,7% (20 de 88 casos). Esta tasa, que puede parecer alta, no difiere de la que podemos encontrar ante un procedimiento de reparación meniscal artroscópica estándar¹¹⁶. Pero cuando observamos en mayor detalle las complicaciones, vemos como en el Grupo A se presentaron con mayor frecuencia (33,3%) comparando con el Grupo B (16,4%). A pesar de ello, si seguimos los criterios de Van Arkel¹¹⁷, que tienen en cuenta no sólo la retención del injerto si no los resultados funcionales de la rodilla, nuestra tasa global de supervivencia del injerto se sitúa en el 92,4% a los 5 años tras la cirugía.

El mejor método de fijación del injerto en el trasplante meniscal continua siendo tema de debate. Por un lado la fijación con suturas ha mostrado mayor facilidad técnica, pero por el otro, mientras estudios en cadáver muestran una mejor transmisión de fuerzas en los injertos fijados mediante soporte óseo^{14,118}, otros estudios experimentales reportan buena curación del injerto con la fijación solamente con suturas^{44,119}, y otro estudio en cadáver no encontró diferencias entre la resistencia a la tracción de los injertos fijados con suturas o los fijados con soporte óseo¹⁹. Podemos encontrar otros estudios que sugieren gestos quirúrgicos particulares que parecerían favorecer o mejorar la biomecánica del implante. Por ejemplo, algunos autores sugieren que la introducción del injerto a través del tendón rotuliano minimizaría el grado de extrusión del injerto¹²⁰, mientras otros consideran que la plicatura capsular artroscópica mejoraría la estabilidad del menisco trasplantado¹²¹.



En referencia a los resultados funcionales se han descrito buenos resultados tanto con la fijación mediante suturas^{3,4,6,8,17,26} como con fijación ósea^{10,18,122,123}. Uno de los pocos trabajos que compara los dos métodos de fijación mencionados no reportó diferencias significativas en cuanto a la función tras la intervención¹²⁴, resultados que son equivalentes a los reportados en el presente trabajo.

Al tener en consideración el compartimento afectado, autores como Szomor et al.¹³ reportaron que los injertos trasplantados al compartimento lateral obtienen mejores resultados. No obstante, estos datos contrastan con los obtenidos en el presente estudio, donde al igual que en otros trabajos publicados^{3,7,113,125}, no se han observado diferencias en los resultados obtenidos entre el compartimento lateral y el medial.

Respecto al grado de extrusión meniscal, en el presente estudio aquellos casos en que la fijación del injerto fue sólo mediante suturas (Grupo A), presentaron mayor grado de extrusión. Esto podría estar relacionado con el menor rendimiento biomecánico de la fijación sin soporte óseo^{14,15,126}.

A pesar de que la literatura no está de acuerdo con el límite a partir de cuando un menisco subluxado o extruido puede considerarse patológico, la mayor parte de los estudios sitúan este valor de normalidad en los 3mm^{108,127}. Porcentualmente hablando, se puede considerar patológico una extrusión mayor del 25%²⁰.

Consideramos que la valoración porcentual puede ser mas adecuada que la valoración en milímetros, ya que tiene mayor correlación con diferentes morfotipos.

Cabe decir que la literatura muestra buenos resultados del TMA a pesar de cierto grado de extrusión del injerto¹²⁸⁻¹³⁰, aunque a la vez se ha observado una cierta relación entre el grado de extrusión meniscal con rotura del injerto y degeneración articular^{106,107}.

Anteriormente, la literatura ya mencionaba como posible causa de extrusión la fijación del aloinjerto sólo con suturas¹⁴, en concordancia con lo observado en el presente estudio. Sin embargo, otro trabajo reciente no mostró relación entre el porcentaje de

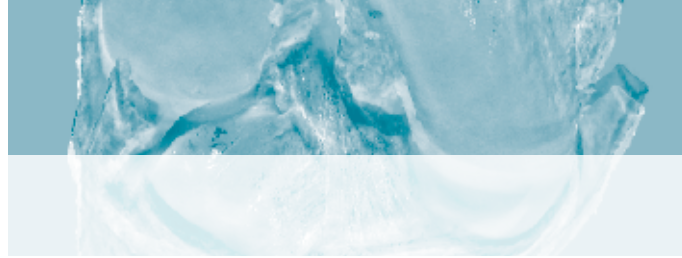


extrusión meniscal con el grado de colapso articular¹²⁹. Es llamativo que el grado de extrusión del injerto tiende a ser estable a lo largo del tiempo y su repercusión clínica aún esta por demostrar¹³¹, lo cual se correlaciona con los resultados de este estudio donde el porcentaje de extrusión no influyó en los resultados funcionales obtenidos. Es de remarcar que a pesar de que el grado de extrusión del menisco nativo es variable, esta se presenta con mayor frecuencia en los meniscos trasplantados¹⁰⁸. Ha et al.¹²⁸ en su serie de TMA fijados con soporte óseo reportaron una tasa de extrusión del 42,1%, con una extrusión *major* en el 75% de sus pacientes. Lee et al.¹³¹ reportaron una media de extrusión del 33%, porcentaje similar al apreciado en el grupo A del presente trabajo, mientras que el grupo B reporta un porcentaje considerablemente menor de pacientes con extrusión *major*. El grupo fijado con suturas (A) tuvo una tasa del 36,3% de extrusión, estadísticamente superior al 28,13% presentado por el grupo fijado con soporte óseo (B). A pesar de que basado en la literatura comentada previamente el grado de extrusión no parezca clínicamente relevante, el grupo A presentó dos veces más casos de extrusión *major*. Estos hallazgos sugieren que la fijación con suturas tiene mayor tendencia a la extrusión del injerto. Y si bien se debe tener presente que no se conoce aún el efecto a largo plazo de esta extrusión del injerto, teóricamente podría comportar efectos nocivos en el cartílago articular. Además se especula sobre si esta extrusión puede comportar pérdida de resistencia del tejido meniscal y predisponer a su degeneración, rotura o pérdida de fijación meniscocapsular¹³².

6.2. Preservación del injerto

En cuanto al método de preservación del injerto meniscal para el TMA, el principal hallazgo fue que la suplementación del medio de cultivo con ITS mostró una expresión genética más similar a la del grupo control que la conseguida con suplementación con FBS y además no se alteró la red de colágeno, datos que confirmaron nuestras hipótesis iniciales de trabajo.

El colágeno tipo I (la proteína más importante en la matriz extracelular)³⁷ se incrementó significativamente en el grupo FBS. Actualmente se desconoce si este gran



aumento de colágeno puede conducir a un menisco fibrótico. En el estudio del agregano, el proteoglicano más importante en la matriz extracelular, no hubo diferencias en la cantidad del mismo a lo largo de las 4 semanas de análisis entre los tres grupos estudiados. Esto contrasta con trabajos previos^{133,134} en los cuales la síntesis de proteoglicano bajaba drásticamente a las 4 semanas, sugiriendo una pequeña ventana de seguridad de entre 10 y 14 días para la implantación de un injerto meniscal viable.

El colágeno tipo II se halla en más proporción en la parte interna del menisco³⁷, a pesar de ello la importancia de esta proteína para la matriz extracelular no es bien conocida. En este caso, el medio FBS mostró tener mejor expresión de colágeno tipo II que el medio suplementado con ITS.

Este estudio representa uno de los primeros en evaluar la expresión génica de las proteínas tras un periodo de cultivo. Verbruggen et al.¹³³ compararon el metabolismo celular de meniscos humanos cultivados en un medio suplementado con suero fetal bovino al 20% con otro medio de cultivo libre de suero. Concluyeron que el menisco mantenía sus condiciones viables hasta dos semanas con este suero fetal bovino, porque en periodos más largos de tiempo el nivel de proteoglicanos decrecía considerablemente. Para estudiar el metabolismo celular, los autores mencionados estudiaron el grado de sulfato que se había incorporado a los proteoglicanos. Por el contrario en esta investigación la viabilidad de los fibroblastos fue estudiada evaluando la capacidad de producir colágeno tipo I, II y agregano.

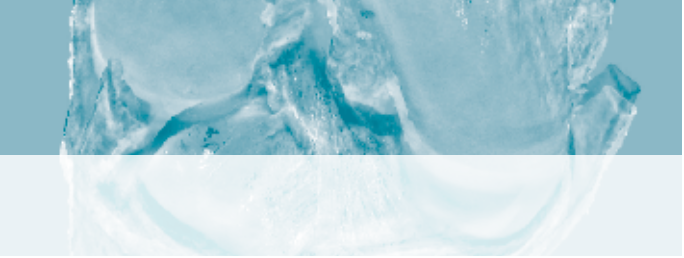
El método utilizado expresa la producción exacta de estas proteínas en un momento específico, por lo que resulta una técnica con una alta sensibilidad. Esta alta sensibilidad, la alta variabilidad celular y de distribución de las proteínas entre los meniscos e incluso en diferentes zonas de cada menisco³⁷, así como el hecho de que Verbruggen et al.¹³³ no evaluaran la expresión génica a las 2 semanas, representan importantes diferencias con el estudio que se presenta.

En la literatura podemos hallar numerosos estudios que describen la distribución de los distintos tipos de colágeno en el menisco^{37,135-138}. La proteína de colágeno represen-

ta el 70% del peso seco de menisco. De éste, el 70% representa colágeno tipo I. A pesar de que no queda clara la función del colágeno tipo II, su localización específica en la el tercio interior del tejido meniscal, probablemente como consecuencia de la estimulación mecánica, puede sugerir una función arquitectural mucho más importante de la planteada en un inicio. En este estudio, la baja (y en algunos casos incluso nula) expresión génica de colágeno tipo II en ambos medios a las 4 semanas podría interpretarse como una desventaja importante con respecto a la capacidad de mantener una arquitectura de red de colágeno normal.

La estructura de la red colágeno ha sido evaluada mediante la escala CMA propuesta por Gelber et al.²⁴ y mediante la medición de las fibras de colágeno tanto en su diámetro transversal como longitudinal. La fiabilidad interobservador fue calculada, siendo en éste estudio moderada, en contraste con resultados superiores obtenidos en un estudio previo²⁵. No se hallaron diferencias entre los tres grupos a estudio en cuanto a puntuación de la escala CMA o en el tamaño de las fibras de colágeno en las secciones meniscales estudiadas. Esto sugiere una buena preservación de la red colágena en ambos medios de suplementación, aunque se observó un leve aumento en el tamaño de las fibras en los medios utilizados (FBS y ITS). Esto puede estar justificado por el hecho de que las fibras de colágeno estuvieron embebidas en un medio acuoso durante 28 días. Al igual que otros estudios se objetivó integridad ultraestructural de la red de colágeno a las 4 semanas^{26,133}.

La criopreservación y la ultra-congelación son dos técnicas diferentes ampliamente utilizadas para preservar el tejido meniscal. Parece ser que la criopreservación mantiene la arquitectura de la red colágena intacta y comporta un grado variable de supervivencia celular. Por otro lado la congelación simple en este aspecto tiene estudios a favor y en contra^{23,24}. Un punto clave a tener en cuenta para los resultados funcionales del trasplante meniscal es la viabilidad de las células para repoblar el injerto meniscal y sintetizar matriz extracelular¹³⁹. Con esto se consigue que las células trabajen adecuadamente, sean capaces de remodelar y mantener la matriz extracelular y por lo tanto puedan retener las propiedades biomecánicas del menisco. Hay estudios con-



tradictorios en relación con el tiempo necesario para la repoblación celular del injerto meniscal. Arnozky et al.¹⁴⁰ demostraron que este proceso es lento y en ocasiones incluso incompleto. Mostraron como tras 6 meses el centro del menisco congelado trasplantado permanecía acelular. Además Verdonk et al.¹⁴¹ mostraron que el ADN del donante puede ser detectado hasta 64 meses tras el trasplante. Se demostró que éste ADN del donante se hallaba en el borde interior de los meniscos (región en donde se retiene mayor actividad biológica), sugiriendo que las células del donante sobrevivían durante un largo período de tiempo. En contraste, Jackson et al.¹⁴² observaron que las células de huésped rápidamente repoblaban el menisco trasplantado y que no quedaba evidencia de las células del donante en la matriz extracelular del menisco a largo plazo. Estudios realizados a largo plazo en el TMA con técnicas de criopreservación o de congelación simple no han mostrado diferencias en comparación con la viabilidad el trasplante^{9,22,26,27}. Por lo tanto, cuando se realiza un trasplante meniscal, la calidad relativa a la celularidad o al colágeno es desconocida.

El medio suplementado con FBS ha sido ampliamente usado para preservar tejido meniscal en estudios de laboratorio^{26,27,133}. A pesar de ello, su composición no es bien conocida ya que es producida a través de suero bovino y depende del animal sacrificado. Este medio no puede ser usado cuando el menisco debe ser trasplantado a un humano y en estos casos se obtiene suero de huésped para suplementar el medio del menisco. Es relativamente difícil obtener menisco fresco del banco de tejidos ya que solo se dispone de una ventada de dos semanas para el trasplante del mismo. Contrariamente al FBS, el ITS, tiene una composición bien conocida y se usa ampliamente para la preservación de tejido humano^{29,31,143}.

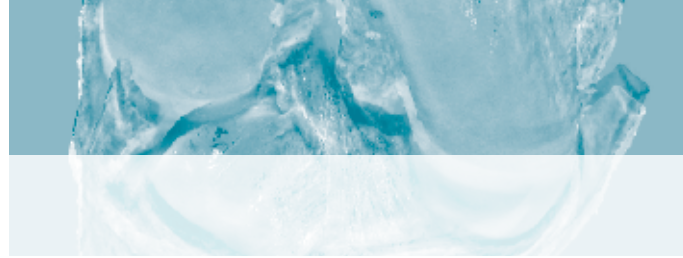
Con los datos obtenidos en el presente estudio parece demostrarse que el ITS puede usarse para conservar el tejido meniscal en lugar del suero del donante al menos tras 4 semanas desde su obtención.

Los resultados del estudio sugieren que la suplementación con ITS podría ser utilizada en lugar de suero del huésped con el fin de preservar el tejido meniscal. Como se ha

demostrado que la arquitectura de red de colágeno y metabolismo de las proteínas de colágeno de tipo I y agregano se mantienen al menos 4 semanas sin tener en cuenta la práctica ausencia de colágeno de tipo II, la solución de insulina-transferrina-selenio podría ser considerada como un buen complemento para preservar el tejido meniscal humano. Los estudios en animales deberían ser el siguiente paso con el fin de averiguar si se pueden crear bancos de meniscos frescos utilizando medios ITS. Esto permitiría prolongar el tiempo entre la obtención del injerto meniscal y su colocación en una rodilla huésped. La relevancia clínica de este estudio radica en que la suplementación del medio de cultivo con ITS puede ser utilizado en lugar de FBS o suero de huésped en la preservación del injerto meniscal. Esto puede hacer que el trasplante meniscal fresco sea menos complicado logísticamente de realizar.

6.3. Limitaciones de los estudios presentados

Los estudios presentaron algunas limitaciones, como que aún siendo estudios prospectivos, los grupos no fueron aleatorizados. Los primeros 33 pacientes fueron adjudicados al grupo A y los siguientes 55 pacientes al grupo B. Es lógico pensar que la curva de aprendizaje en la técnica del TMA podría haber tenido cierta influencia en los resultados. A pesar de ello todos los casos se siguieron longitudinalmente con exploración clínica y radiográfica, siendo ambos grupos comparables en las variables que los definen. Otra limitación importante es la inclusión de pacientes con patología asociada como reconstrucciones del LCA así como la falta de un grupo control. Analizar el grado de extrusión con imágenes estáticas en decúbito supino representa otro punto cuestionable del estudio. Boxheimer et al.¹⁴⁴ objetivaron que durante el movimiento postero-anterior del menisco durante la flexión se produce un mayor grado de extrusión con el paciente en bipedestación. A pesar de ello, la utilización de imágenes de RM en decúbito supino es una limitación habitual en estudios de estas características^{111,122,145}. Además, el hecho que esta condición se repitió invariablemente en todos los individuos estudiados minimiza el posible impacto de la misma.



En cuanto al estudio de la preservación del injerto caben destacar algunas limitaciones. La principal es la gran variabilidad existente entre cada menisco. Esto puede ser debido a que el tejido meniscal ha sido obtenido de pacientes de edad avanzada. A pesar de que fue obtenido en buenas condiciones macroscópicas, el menisco en pacientes de 70 años ya ha comenzado su proceso degenerativo. Incluso en el entorno clínico se espera una alta variabilidad en los componentes de colágeno y células de los aloinjertos. Sin embargo, las mismas muestras se utilizaron como grupos experimentales y grupos controles para minimizar así cualquier posible sesgo. Otra posible explicación para la gran variabilidad observada podría ser que la viabilidad celular se evaluó mediante la expresión de genes en lugar de la cantidad total de proteína sintetizada durante las 4 semanas de estudio, que como se comentó previamente es una técnica de muy alta sensibilidad. Otra limitación fue que aunque los diámetros de las fibrillas de colágeno se midieron con la ayuda de un calibre digital de alta precisión, esto se hizo manualmente, lo cual podría haber sido mejorado con la ayuda de algún software de análisis de imagen²⁸.

A pesar de las limitaciones mencionadas los trabajos presentados mostraron tres importantes hallazgos no descritos previamente en la literatura:

- 1.** Fue la primera comparación clínica, radiográfica y funcional descrita en la literatura entre fijación sólo con suturas versus fijación asociada con soporte óseo, en dos grupos comparables de pacientes e intervenidos por el mismo cirujano.
- 2.** Fue la primera vez que se relacionó el porcentaje de extrusión meniscal con el tipo de fijación utilizado en TMA.
- 3.** Fue el primer trabajo que presentó un medio alternativo de preservación del injerto fresco.



7. CONCLUSIONES

TRABAJO n.1: Abat F, Gelber PE, Erquicia J, Tey M, Gonzalez-Lucena G, Monllau JC. *Prospective comparative study between two different fixation techniques in meniscal allograft transplantation. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2013 Jul;21(7):1516-22.

El trasplante meniscal alogénico obtuvo buenos resultados radiográficos y funcionales con las dos técnicas de fijación estudiadas a medio plazo.

Ninguna de las dos técnicas de fijación mostraron diferencias funcionales o radiográficas.

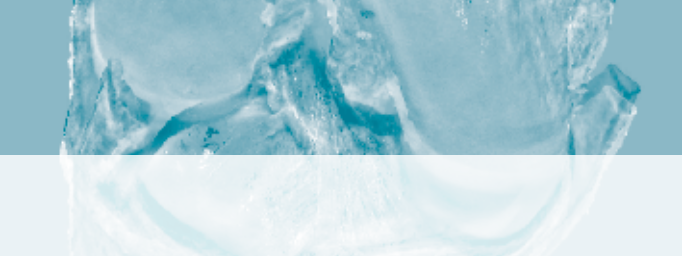
Se presentó una tasa considerablemente mayor de complicaciones en los injertos fijados con suturas sobre aquellos en los que se asoció fijación ósea, aunque estas no alcanzaron diferencias estadísticas.

Los datos obtenidos sugieren que se alcanzan resultados funcionales similares entre los métodos de fijación, pero las roturas del injerto tienden a ser más frecuentes en los injertos fijados sin soporte óseo.

TRABAJO n.2: Abat F, Gelber PE, Erquicia J, Pelfort X, Gonzalez-Lucena G, Monllau JC. *Suture-Only Fixation Technique Leads to a Higher Degree of Extrusion Than Bony Fixation in Meniscal Allograft Transplantation. Am J Sports Med.* 2012 Jul;40(7):1591-6.

Los injertos meniscales fijados con suturas en el TMA presentaron un mayor grado de extrusión que aquellos en los que se les asocia fijación ósea. Este mayor grado de extrusión no tuvo influencia con los resultados funcionales obtenidos con el TMA.

Se produjeron considerablemente más casos de roturas del injerto en aquellos TMA fijados con suturas, aunque sin alcanzar la significación estadística.



TRABAJO n.3: Gelber PE, Torres R, Garcia-Giralt N, Erquicia J, Abat F, Monllau JC. *Host serum is not indispensable in collagen performance in viable meniscal transplantation at 4-week incubation. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc. 2012 Sep;20(9):1681-8.*

El medio suplementado con insulín-transferrín-selenio fue al menos tan eficaz como el medio suplementado con suero fetal-bovino en la preservación de la arquitectura de la red del tejido meniscal. La expresión génica de las proteínas estudiadas fue similar en el grupo de ITS a la observada en el grupo control a las 4 semanas. Desde un punto de vista lógico, la suplementación con ITS podría ser una mejor y más accesible alternativa como suplemento para un medio de cultivo orientado a la preservación del tejido meniscal que la FBS o suero del huésped in vivo.

8. COPIA DE LOS TRABAJOS

TRABAJO n.1

Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc
DOI 10.1007/s00167-012-2032-4

KNEE

Prospective comparative study between two different fixation techniques in meniscal allograft transplantation

Ferran Abat · Pablo Eduardo Gelber ·
Juan I. Erquicia · Marc Tey ·
Gemma Gonzalez-Lucena · Juan Carlos Monllau

Received: 4 January 2012 / Accepted: 19 April 2012
© Springer-Verlag 2012

Abstract

Purpose To compare the functional and radiographic results between two different horn fixation techniques for meniscal allograft transplant.

Methods This is a prospective study of 88 meniscal allograft transplants with a mean 5-year follow-up. Forty transplants were performed on the medial compartment and 48 on the lateral compartment. The same surgeon performed all surgeries. Thirty-three grafts were fixed only with sutures (Group A) and 55 only with bony fixation (Group B). Both groups were comparable in terms of age, laterality, time since meniscectomy and preoperative functional and radiographic status. Functional assessment was done with Lysholm and Tegner scores and the Visual Analogical Scale for pain. Joint space narrowing was evaluated in the Rosenberg view.

Results There was a significant improvement in Lysholm, Tegner and VAS scores without differences between Group A and Group B (n.s.). Radiographic evaluation did not show any joint space narrowing (n.s.). No differences in the comparison of all the variables of the two compartments were found. There were complications in 33.3 % of patients in Group A that including 7 graft tears (21.4 %) and in which there was an allograft failure rate of 9 %. Group B showed complications in 16.4 % of the patients

and included 4 graft tears (7.3 %, n.s.) with an allograft failure rate of 3.6 %.

Conclusions Meniscal allograft transplantation with either technique provided good functional and radiographic results at mid-term follow-up. Both graft fixation methods showed no differences relative to functional and radiographic results. There was a considerably higher rate of complications in transplantations performed with the only-suture technique than those with bony fixation, although the difference was not statistically significant with the numbers available. The results suggest that similar functional results should be expected whether the meniscal graft includes bone plugs or not. However, graft tears seem to happen more frequently if the MAT is performed without bony fixation.

Level of evidence Prospective comparative study, Level II.

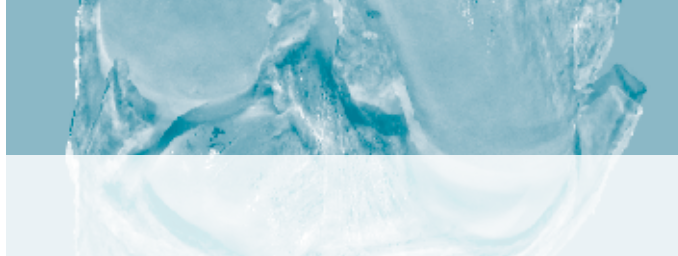
Keywords Meniscectomy · Meniscal transplantation · Meniscal allograft · Suture fixation · Bony fixation

Introduction

Total meniscectomy was the treatment of choice for a meniscal rupture for a long period of time. Since Fairbank described arthritic changes occurring in a meniscectomized knee, which was later confirmed by others investigators [9], more conservative techniques such as partial meniscectomy and meniscal repair have increasingly been used. More recently, in an attempt to replace the lost tissue and to possibly prevent progressive deterioration of the joint, meniscal allograft transplantation (MAT) was introduced in clinical practice by Milachowsky et al. [23]. Since then, good mid- and long-term results have been reported after

F. Abat · P. E. Gelber (✉) · G. Gonzalez-Lucena ·
J. C. Monllau
Department of Orthopaedic Surgery, Hospital de la Santa Creu i
Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Sant Quintí 89,
08041 Barcelona, Spain
e-mail: personal@drigelber.com

P. E. Gelber · J. I. Erquicia · M. Tey · J. C. Monllau
ICATME-Institut Universitari Dexeus, Universitat Autònoma de
Barcelona, Sabino de Arana 5-19, 08017 Barcelona, Spain



MAT as a treatment for pain in the previously meniscectomized compartment of the knee [11, 20, 24, 33, 36, 37]. Although MAT might offer a certain chondroprotective effect in some cases, it is still a matter of controversy [7, 18, 19, 28, 30, 36].

Controversy regarding the best fixation method for the graft still exists. Although it may be easier to secure the graft with soft tissue alone (only-suture technique), cadaver model research indicates that superior transmission of load occurs when fixing the meniscal horns of the graft with bone plugs (bony-fixation technique) [2, 6]. However, the superiority of one fixation technique over another has not been clinically demonstrated. McDermott et al. [22], in one of the few clinical studies that compares different meniscal graft fixation methods, reported similar results in the reduction in articular stress using only sutures and bony fixation in lateral meniscal transplantations. In the Verdonk [35] or van der Wal et al. [33] clinical studies, good results were reported on MAT without bone plugs. On the other hand, authors like Stollsteimer et al. [29] and Hommen et al. [16] reported good results with bony fixation.

The aim of this study was to compare the functional and radiographic results as well as the complications observed in MAT performed with 2 distinct allograft fixation techniques (bony and only-suture fixation) in a short-term prospective clinical study.

The first hypothesis of the work was that MAT would give similar results with both techniques. The second hypothesis was that both techniques would show a similar complications rate.

Materials and methods

A prospective study of 88 consecutive patients was carried out between 2001 and 2008. The senior surgeon (JCM) performed all the surgical procedures. The average follow-up period was 5 years (range, 2.5–10). The inclusion criterion was joint line pain due to a previous total or subtotal

meniscectomy (postmeniscectomy syndrome). Malalignment was considered an exclusion criterion. Normal alignment was considered up to 5° varus alignment and 7° valgus alignment. Those patients who presented with an Ahlbäck greater than grade II in the Rosenberg view were also excluded. An ACL-deficient knee was not considered a contraindication if the ligament was reconstructed at the same time as the transplant.

The series was composed of 56 men (64 %) and 32 women (36 %) with a mean age of 37.3 years (range, 15–51 years). Forty transplantations (45 %) were performed to replace the medial meniscus and 48 (55 %) to replace the lateral meniscus. Fifty-four (61 %) were performed on right knees and 34 (39 %) on left knees. It was a consecutive series in which the first 33 of the grafts (37.5 %) were fixed with an only-suture technique (Group A) and the following 55 cases (62.5 %) with associated bony-fixation technique (Group B).

Both groups were comparable in terms of gender, age, previous functional status, radiographic evaluation, time since meniscectomy and number of previous surgeries (n.s.) (Table 1).

Additional procedures were performed on 13 patients (39 %) in Group A: ACL reconstruction in 8, microfracture in 8 and chondral shaving in 9. On the other hand, 24 patients (43 %) in Group B had concomitant surgical procedures: ACL reconstruction in 10, microfracture in 7, hardware removal in 3 (Puddu osteotomy plate) and arthroscopic cartilage repair with TruFit plugs (Smith and Nephew, Andover, MA, USA) in 2.

The clinical research ethics committee of our institution approved the study (10/090/1129). All the patients signed an informed consent to participate in the study as well as for the evaluation and publication of their results.

Type of graft

Fresh-frozen (−80 °C), non-irradiated, non-antigen-matched meniscal allografts [10] were used in this series.

Table 1 Description of both groups

Variables	Group A	Group B	Sig. (p)
Sex (male/female)	27 %/73 %	40 %/60 %	n.s.
Age (years)	38.8 ± 6.3	35.7 ± 7.9	n.s.
Knee (R/L)	67 %/33 %	61 %/39 %	n.s.
Compartment (med/lat)	42 %/58 %	46 %/54 %	n.s.
Number of previous surgeries	1.5 ± 0.6	1.8 ± 0.7	n.s.
Time since meniscectomy (years)	11.2 ± 2.2	15.5 ± 3.8	n.s.
Rosenberg pre-surgery (mm)	3.2 ± 0.8	3.05 ± 1.1	n.s.
Lysholm pre-surgery	65.4 ± 11.6	62.3 ± 9	n.s.
Tegner pre-surgery	3 (1–6)	3 (1–7)	n.s.
VAS pre-surgery	6.4 ± 2.2	6.7 ± 2.2	n.s.

Values are presented as percentages, mean ± SD or median (range)

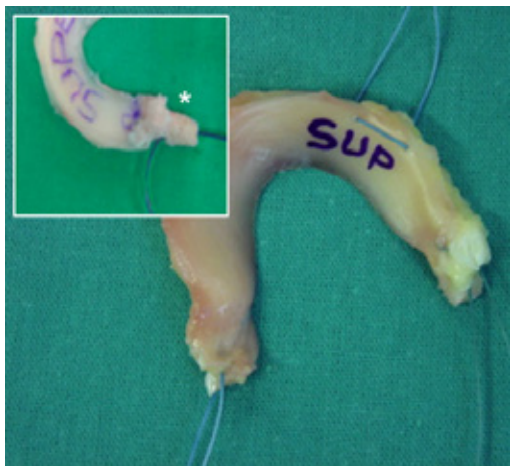


Fig. 1 Medial meniscus allograft of a left knee. The sutures in both horns pierced directly in the meniscal tissue (Group A). *Inset* Meniscus corresponding to Group B; the suture is passed through a 1.5-mm transversal hole in the bone plug (*asterisks*) attached to the posterior horn of the allograft

Local authorized tissue banks supplied the allografts. Allograft sizing was done according to the morphometric dimensions (weight and size) as well as the radiographic measures of the donor and recipient's knee as described by Pollard et al. [25].

Surgical technique

The surgical technique was completely arthroscopic. In all the cases, the previous meniscal resection was almost complete. 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. In those allografts corresponding to Group A, either No. 2 high-strength sutures (FiberWire; Arthrex, Naples, FL) or No. 2 polyester sutures (Ethibond; Ethicon, Somerville, NJ) with a Krakow mattress were placed at both horns. In those patients corresponding to Group B, a 6-mm-diameter and 10-mm-long bone plug was left on each horn. Then, a transversal 1.5-mm tunnel was drilled in each bone plug, and a No. 2 FiberWire suture was passed through it (Fig. 1). One additional vertical mattress suture was placed in each allograft of both groups at the junction between the posterior horn and the body of the meniscus. The posterior horn suture was used to pull the meniscal allograft in place. The additional vertical suture aids in situating the graft because it is first retrieved from the posterolateral or posteromedial corner with an outside-in technique and pulled when the graft is being introduced into the joint. The

allograft was then well fixed to the rim using either an inside-out technique with mattress sutures (SharpShooter; ConMed Linvatec, Largo, FL) or an all-inside technique (FasT-Fix; Smith and Nephew, Andover, MA). Both kinds of sutures were oriented vertically whenever possible. Finally, the sutures placed in the anterior and posterior horns or through the bone plugs of each horn were tied together over the tibia cortical surface.

Major concomitant procedures included treatment for cartilage injuries and ACL reconstruction or revision. In the case of localized Outerbridge grade IV cartilage injuries, microfractures were made on the bone that had undergone eburation 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 was previously established to avoid wall breakage between the different bone tunnels.

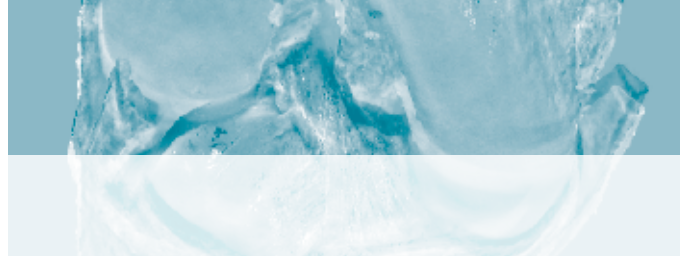
Rehabilitation protocol

Both groups followed the same rehabilitation protocol. 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.

Functional and radiologic evaluation

Functional follow-up included the 100-point Lysholm score as well as Tegner score. A ten-point Visual Analogical Scale (VAS) for pain was also used. Patient satisfaction was evaluated with a subjective score and graded as very satisfied (4 points), satisfied (3 points), neutral (2 points), somewhat dissatisfied (1 point) and not satisfied at all (0 points).

Radiographic assessment included long-standing X-ray as well as the posteroanterior 45° flexion Rosenberg view. Because one of the potential effects of MAT might be the preservation of the cartilage, joint space narrowing in the involved compartment measured at the beginning and at final follow-up was focused on. The shortest distance between the femoral condyle and the tibial plateau of the involved compartment was measured preoperatively and at latest follow-up in the Rosenberg view as a measure of joint space narrowing. Measurements were carried out with the ePACS viewer software (5.0; Real Time Image, San Bruno, CA), which might improve the accuracy of the measurement of the joint space width. However, it still depended on the influence of radio-anatomical plane of



measurement, degree of knee flexion, magnification and angulation of the X-ray beam [5].

Functional as well as radiographic evaluation was carried out by two independent observers who were blinded for the type of allograft fixation used. It was done so because, although the series are consecutive, the evaluations of the radiographies and functional scores corresponding to a similar a follow-up period were done at the same time. Medial allografts were also compared with lateral allografts at final follow-up. The intraclass correlation coefficient for the radiographic evaluation was calculated. Values ranged between 0 (poor) and 1 (excellent) [13].

Statistical analysis

Categorical variables are presented as percentages and frequencies. Continuous variables are presented as average \pm standard deviation, maximum and minimum values. Categorical variables are presented as a median (range). Interobserver agreement was analysed using the intraclass correlation coefficient (ICC). In those relevant cases, a 95 % confidence interval was calculated. The Pearson correlation coefficient was also calculated. A Kolmogorov-Smirnov analysis was performed to test for the normal distribution of the difference between the preoperative and postoperative scores. The inferential statistic applied was the *t* test from a sample in order to compare the results with a previous study. In the case of studying two situations (e.g. medial vs. lateral compartment), a *t* test for independent data was employed. Likewise, the comparisons between previous and posterior values were made with a “*t*” test but with paired data in this case. The level of significance was set at 5 % ($\alpha = 0.05$, $p < 0.05$). Statistical analysis was performed using SPSS version 19.0 (SPSS Inc, Chicago, Illinois).

Results

At a mean of 5 years (range, 2.5–10 years), all the 88 patients were available for follow-up.

Functional and radiographic results

An overall improvement was obtained in terms of Lysholm, Tegner and VAS scores. The Lysholm score improved from 65.4 ± 11.6 to 88.6 ± 7 in Group A and from 62.3 ± 9 to 91.2 ± 6.9 in Group B, respectively ($p = 0.04$). The median follow-up Tegner score significantly improved from 3 (range, 1–6) to 6 (range, 3–8) in Group A and from 3 (range, 1–7) to 6 (range, 2–9) in Group B (n.s.). The average VAS score dropped 4.9 and 5.8 points in Groups A and B, respectively. The satisfaction of the patients with regard to the procedure had a mean overall degree of 3.7 ± 0.3 points out of a maximum of 4. No differences were observed when the two groups under study were compared in any of the analysed variables (Table 2). The radiographic evaluation with the Rosenberg projection did not show any joint space narrowing (n.s.). The intraclass correlation coefficient (0.89) as well as the Pearson correlation coefficient (0.91) for the interobserver agreement relative to the radiographic assessment qualified both as excellent.

When the results were analysed by compartment (medial vs. lateral), there were no differences found in any of the studied variables (Table 3).

Complications

There were complications in 11 patients (33.3 %) in Group A. Two patients developed arthrofibrosis who required arthroscopic arthrolysis. There were also 2 cases of septic arthritis that needed arthroscopic lavage plus specific antibiotic therapy over a period of 6 weeks. In all the aforementioned 4 cases, the transplanted menisci looked viable and were kept in place. Due to graft tears, a second surgery was necessary for the remaining 7 patients (21.4 %). Four of them had later loss of allograft fixation requiring new fixation. In the other 3 cases of graft tears, the allograft had to be completely removed. This represents an allograft failure rate in this group of 9 % (3 out of 33).

In Group B, there were complications in 9 patients (16.4 %). They included 3 arthrofibrosis and 2 infections. In these 5 cases, the transplanted grafts were also viable

Table 2 Comparison of functional and radiographic outcomes

Variables	Group A	Group B	Sig. (<i>p</i>)
Lysholm (pre–post)	65.4 ± 11.6 – 88.6 ± 7	62.3 ± 9 – 91.2 ± 6.9	n.s.
Tegner (pre–post)	3 (1–6)–6 (3–8)	3 (1–7)–6 (2–9)	n.s.
VAS (pre–post)	6.4 ± 2 – 1.5 ± 1.2	6.7 ± 2 – 0.9 ± 1.3	n.s.
Radiographic joint space narrowing (mm; pre–postoperative)	3.2 ± 1.2 – 3.2 ± 1.9	3.1 ± 1.5 – 3.5 ± 1.5	n.s.
Satisfaction	3.6 ± 0.2	3.8 ± 0.2	n.s.

Tegner scores are shown as median (range). The remaining variables are shown as mean \pm SD



Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc

Table 3 Postoperative functional outcomes comparing medial versus lateral meniscal transplantation

	Group A		Group B		p value
	Medial	Lateral	Medial	Lateral	
Lysholm	88.4 ± 7.5	89 ± 9.2	89.2 ± 7.4	93.2 ± 6.2	n.s.
Tegner	6 (3–8)	6 (3–8)	6 (3–9)	7 (1–9)	n.s.
VAS	1.4 ± 1.5	1.8 ± 1.3	0.9 ± 1.1	0.9 ± 1.4	n.s.
Satisfaction	3.6 ± 0.31	3.5 ± 0.5	3.8 ± 0.4	3.7 ± 0.5	n.s.

Tegner scores are shown as median (range). The remaining variables are shown as mean ± SD

and kept in place after arthroscopic arthrolysis or arthroscopic lavage plus specific antibiotic therapy for 6 weeks. There were graft tears in 4 patients (7.3 %). Two of these graft tears could be saved after re-fixation. The remaining 2 meniscal allograft that developed tears had to be completely removed. They represent an allograft failure rate in Group B of 3.6 % (2 out of 55). However, the difference in graft failures between Group A (9 %) and Group B (3.6 %) was not statistically significant with the numbers available (n.s.). This was also true with the graft fixation failure, which included not only the grafts that had to be finally removed but also those graft that had to be refixed (n.s.).

Discussion

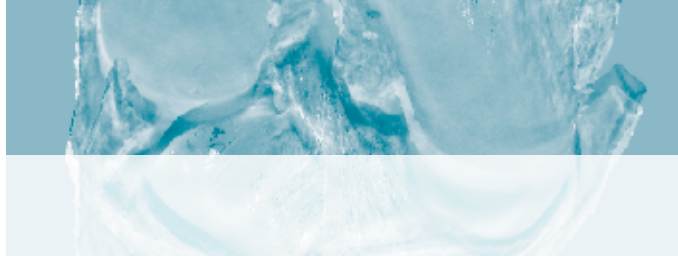
The most important finding of the current study was that no differences were observed in terms of pain, functionality and joint space narrowing between the two different methods of graft fixation investigated. This confirms our initial hypothesis. However, the second hypothesis was refuted because a considerably higher complication rate, although without statistical significance, was observed in the group in which the allografts were fixed only with sutures.

The main difference between the two performed techniques was found in the percentage of complications observed between groups. MAT fixed with an only-suture technique showed a complications rate that was 3 times greater than MAT performed with a bony-fixation method. The literature reports a complication rate of 0–45 % [14]. This high variation depends on what is considered a complication. However, the most frequent complication reported in MAT is tearing of the allograft. In a review of 15 series evaluating the clinical outcome of meniscal transplantation, Matava et al. [21] found a tear rate of 8.2 %. Our series has shown an overall tear rate of 12.5 %. However, a clearly lower tear rate was observed in those implants fixed with bony plugs (7.2 %) in comparison with those fixed with sutures (21.2 %). This difference might be due to the greater stability of the implant when bone fixation was used [29]. In the case of infections, while some

series have not reported any cases, some others reached a rate of 4.5 % [23], which coincides with the infection rate observed in the present study. The fact that the graft could be finally kept viable in place in all the patients who developed septic arthritis showed the concordance with a reported study, which suggested that early aggressive arthroscopic debridement and repeated irrigation with graft retention can be an effective treatment regimen in these cases [4].

The overall complication rate was 22.7 % (20 of 88). This percentage is not worse than the complication rate observed after standard arthroscopic meniscal repair [31]. More in detail, the complication rate of Group A was considerably worse (33.3 %) in comparison with the complication rate observed in Group B (16.4 %). However, following the criteria of Van Arkel and de Boer [32], which considers not only meniscal retention but also good knee function, our global allograft survival rate was 92.4 % at a mean 5 years postoperatively.

Allograft fixation techniques continue to be the subject of debate. Although it may be easier to secure the graft by soft tissue alone, cadaver model research indicates that superior transmission of load occurs when fixing the meniscal horns of the graft with bone plugs [2, 5]. However, other experimental studies have shown good healing of the transplanted allograft when both horns are sutured without bone plug fixation [8, 26]. Some authors have otherwise suggested introducing the graft through the patellar tendon [39] or to plicate the capsule arthroscopically [17] in order to improve the biomechanical characteristics of the graft. Hunt et al. [16], in an experimental investigation comparing grafts fixed with and without bone plugs, showed no differences in terms of the mean pullout strength in a cadaveric model. There are also clinical studies in which satisfactory results have been obtained with the only-suture technique [11, 20, 33–35, 37] as well as with bony fixation [12, 18, 29, 38]. Interestingly enough, although a different degree of reproducibility of the meniscal belt might be expected, similar functional outcomes were also observed when the only-suture technique was performed with simple peripheral sutures without any horn fixation [33–35, 37] or including horn fixation through



tibial tunnels [14, 20], as was performed in the present study. One of the few clinical studies comparing both fixation techniques did not find any functional differences [15]. This was in agreement with the similar functional results obtained in the current study with the use of both the soft-tissue and bony-fixation techniques.

It has also been reported that lateral allografts yielded better functional scores than medial allografts [30]. However, this was in contrast to the results observed in the present investigation and in agreement with other studies [1, 11, 14, 36], where lateral and medial MAT scored similarly in all the analysed variables.

Most of the authors have found pain relief and functional improvement to be the main benefits of MAT. This has been demonstrated not only during the first years after the procedure [1, 11, 20, 29, 36, 40], but also in a long-term follow-up [7, 15, 33, 35, 37]. Similarly, a significant improvement in the functional evaluation as well as in pain measured with a VAS in the two studied groups was found.

One limitation of this work is that, although prospective, the study was not randomized as the first 33 patients were assigned to Group A and the following cases to Group B. Thus, the learning curve may have had a certain relationship to the obtained results. However, all cases were followed longitudinally through all the clinical and radiologic aspects and both groups were also comparable in terms of age, gender and radiographic and functional preoperative state. In addition, although the series were consecutive, the evaluations were done at the same time by two independent observers who were blinded for the type of allograft fixation used.

Another important limitation is that the studied groups included patients undergoing isolated MAT as well as patients with concomitant ACL reconstruction to address not only their meniscal problems but also concurrent ligamentous deficiencies. This is an obvious limitation that makes a more accurate assessment of the transplantation difficult because combined procedures introduce a degree of performance bias into the results. On the basis of the interdependence of ACL reconstruction and meniscal surgery on knee function [3], patients undergoing a combined procedure would be more likely to have an improved outcome compared with those with unaddressed knee instability who are undergoing isolated MAT. Nevertheless, the added morbidity of these concurrent surgical procedures may diminish the likelihood of a successful outcome or presents a higher rate of complications [27, 28]. In addition, ACL reconstruction was performed in similar percentages of patients in both groups. Future investigation comparing isolated MAT versus a MAT procedure with concomitant ACL reconstruction or other concomitant procedures should be addressed. Finally, there was no postoperative magnetic resonance imaging evaluation. It

could have permitted the assessment of the healing process and also the degree of graft extrusion in the two fixation techniques.

Regardless of the aforementioned limitations, our study provides one of the first comparisons between a group of MAT fixed only with sutures versus another group of MAT fixed with bone plugs in which all the surgeries were performed in comparable groups of patients by the same surgeon.

Conclusion

Meniscal allograft transplantation performed with either of the evaluated fixation methods provided good functional and radiographic results at mid-term follow-up. Both graft fixation techniques showed no differences relative to functional and radiographic results. There was a considerably higher rate of complications in transplantations performed with the only-suture technique than those that included bony fixation, although the difference was not statistically significant with the numbers available.

The results suggest that similar functional results should be expected if the meniscal graft includes bone plugs or if it does not. However, graft tears seem to happen more frequently if the MAT is performed without bony fixation.

Acknowledgments We are grateful to Ignasi Gich for assisting in the statistical analysis. We also thank Eric Goode for his help in correcting the manuscript.

References

1. Alentorn-Geli E, Seijas Vázquez R, García Balletbó M, Alvarez Díaz P, Steinbacher G, Cuscó Segarra X, Rius Vilarrubia M, Cugat Bertomeu R (2011) Arthroscopic meniscal allograft transplantation without bone plugs. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 19:174–182
2. Alhalki MM, Howell SM, Hull ML (1999) How three methods for fixing a medial meniscal autograft affect tibial contact mechanics. *Am J Sports Med* 27:320–328
3. Allen CR, Wong EK, Livesay GA, Sakane M, Fu FH, Woo SL (2000) Importance of the medial meniscus in the anterior cruciate ligament-deficient knee. *J Orthop Res* 18:109–115
4. Bae JH, Lim HC, Kim HJ, Kim TS, Yang JH, Yoon JR (2010) Arthroscopic treatment of acute septic arthritis after meniscal allograft transplantation. *Orthopedics* 33. doi:10.3928/01477447-20100625-24
5. Buckland-Wright JC (1999) Radiographic assessment of osteoarthritis: comparison between existing methodologies. *Osteoarthritis Cartilage* 7:430–433
6. Chen MI, Branch TP, Hutton WC (1996) Is it important to secure the horns during lateral meniscal transplantation? A cadaveric study. *Arthroscopy* 12:174–181
7. Elattar M, Dholander A, Verdonk R, Almqvist KF, Verdonk P (2011) Twenty-six years of meniscal allograft transplantation: is it still experimental? A meta-analysis of 44 trials. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 19:147–157

8. Elliott DM, Jones R, Setton LA, Scully SP, Vail TP, Guilak F (2002) Joint degeneration following meniscal allograft transplantation in a canine model: mechanical properties and semi-quantitative histology of articular cartilage. *Knee Sports Traumatol Arthrosc* 10:109–118
9. Fairbank TJ (1948) Knee joint changes after meniscectomy. *J Bone Joint Surg Br* 30B:664–670
10. 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
11. González-Lucena G, Gelber PE, Pelfort X, Tey M, Monllau JC (2010) Meniscal allograft transplantation without bone blocks: a 5- to 8-year follow-up of 33 patients. *Arthroscopy* 26:1633–1640
12. Ha JK, Sung JH, Shim JC, Seo JG, Kim JG (2011) Medial meniscus allograft transplantation using a modified bone plug technique: clinical, radiologic, and arthroscopic results. *Arthroscopy* 27:944–950
13. Hale CA, Fleiss JL (1993) Interval estimation under two study designs for kappa with binary classifications. *Biometrics* 49:523–534
14. Hergan D, Thut D, Sherman O, Day MS, Phil M (2011) Meniscal allograft transplantation. *Arthroscopy* 27:101–112
15. Hommen JP, Applegate GR, Del Pizzo W (2007) Meniscus allograft transplantation: ten-year results of cryopreserved allografts. *Arthroscopy* 23:388–393
16. Hunt S, Kaplan K, Ishak C, Kummer FJ, Meislin E (2008) Bone plug versus suture fixation of the posterior horn in medial meniscal allograft transplantation: a biomechanical study. *Bull NYU Hosp Jt Dis* 66:22–26
17. Jung YH, Choi NH, Victoroff BN (2011) Arthroscopic stabilization of the lateral capsule of the knee in meniscal transplantation. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 19:189–191
18. LaPrade RF, Wills NJ, Spiridonov SI, Perkinson S (2010) A prospective outcomes study of meniscal allograft transplantation. *Am J Sports Med* 38:1804–1812
19. Lubowitz JH, Verdonk PC, Reid JB 3rd, Verdonk R (2007) Meniscus allograft transplantation: a current concepts review. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 15:476–492
20. Marcacci M, Zaffagnini S, Marcheggiani Muccioli GM, Grassi A, Bonanzinga T, Nitri M, Bondi A, Molinari M, Rimondi E (2012) Meniscal allograft transplantation without bone plugs: a 3-year minimum follow-up study. *Am J Sports Med* 40:395–403
21. Matava MJ (2007) Meniscal allograft transplantation: a systematic review. *Clin Orthop Relat Res* 455:142–157
22. McDermott ID, Lie DT, Edwards A, Bull AM, Amis AA (2008) The effects of lateral meniscal allograft transplantation techniques on tibio-femoral contact pressures. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 16:553–560
23. Milachowski KA, Weismeier K, Wirth CJ (1989) Homologous meniscus transplantation. Experimental and clinical results. *Int Orthop* 13:1–11
24. Noyes FR, Barber-Westin SD, Rankin M (2005) Meniscal transplantation in symptomatic patients less than fifty years old. *J Bone Joint Surg Am* 87(Suppl 1):149–165
25. Pollard ME, Kang Q, Berg EE (1995) Radiographic sizing for meniscal transplantation. *Arthroscopy* 11:684–687
26. Rijk PC, Van Noorden CJF (2002) Structural analysis of meniscal allografts after immediate and delayed transplantation in rabbits. *Arthroscopy* 18:995–1001
27. Sekiya JK, Giffin JR, Irrgang JJ, Fu FH, Harner CD (2003) Clinical outcomes after combined meniscal allograft transplantation and anterior cruciate ligament reconstruction. *Am J Sports Med* 31:896–906
28. Spang JT, Dang AB, Mazzocca A, Rincon L, Obopilwe E, Beynon B, Arciero RA (2010) The effect of medial meniscectomy and meniscal allograft transplantation on knee and anterior cruciate ligament biomechanics. *Arthroscopy* 26:192–201
29. 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
30. Szomor ZL, Martin TE, Bonar F, Murrell GA (2000) The protective effects of meniscal transplantation on cartilage. An experimental study in sheep. *J Bone Joint Surg Am* 82:80–88
31. Tengrotenhuysen M, Meermans G, Pittoors K, van Riet R, Victor J (2011) Long-term outcome after meniscal repair. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 19:236–241
32. van Arkel ER, de Boer HH (2002) Survival analysis of human meniscal transplantations. *J Bone Joint Surg Br* 84:227–231
33. van der Wal RJ, Thomassen BJ, van Arkel ER (2009) Long-term clinical outcome of open meniscal allograft transplantation. *Am J Sports Med* 37:2134–2139
34. Verdonk PC, 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
35. Verdonk PC, 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 resonance imaging correlations. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 14:694–706
36. Vundelinckx B, Bellemans J, Vanlauwe J (2010) Arthroscopically assisted meniscal allograft transplantation in the knee: a medium-term subjective, clinical, and radiographical outcome evaluation. *Am J Sport Med* 38:2240–2247
37. Wirth CJ, von Lewinski G (2004) Long-term results after combined medial meniscal allograft transplantation and anterior cruciate ligament reconstruction: minimum 8.5-year follow-up study. *Arthroscopy* 20:782–783
38. Yoldas EA, Sekiya JK, Irrgang JJ, Fu FH, Harner CD (2003) Arthroscopically assisted meniscal allograft transplantation with and without combined anterior cruciate ligament reconstruction. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 11:173–182
39. Yoon JR, Kim TS, Lee YM, Jang HW, Kim YC, Yang JH (2011) Transpatellar approach in lateral meniscal allograft transplantation using the keyhole method: can we prevent graft extrusion? *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 19:214–217
40. Zhang H, Liu X, Wei Y, Hong L, Geng XS, Wang XS, Zhang J, Cheng KB, Feng H (2012) Meniscal allograft transplantation in isolated and combined surgery. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 20:281–289

Suture-Only Fixation Technique Leads to a Higher Degree of Extrusion Than Bony Fixation in Meniscal Allograft Transplantation

Ferran Abat,* MD, Pablo Eduardo Gelber,**† MD, PhD, Juan Ignacio Erquicia,‡ MD, Xavier Pelfort,‡ MD, Gemma Gonzalez-Lucena,* MD, and Juan Carlos Monllau,**‡ MD, PhD
Investigation performed at the Hospital de la Santa Creu i Sant Pau; and the ICATME-Institut Universitari Dexeus, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

Background: Most of the published series of transplanted menisci have consistently shown some degree of allograft extrusion. The speculation is that this meniscal extrusion may be caused by the soft tissue technique used to fix the allograft.

Hypothesis: The percentage of extruded meniscal graft would be higher if the allograft were only fixed with sutures rather than with associated bony fixation.

Study Design: Cohort study; Level of evidence, 2.

Methods: We performed a prospective series of 88 meniscal allograft transplantations. Thirty-three of the grafts were fixed with the suture-only technique (group A). The remaining 55 cases were performed with the bone plug method (group B). All patients were studied with magnetic resonance imaging (MRI) at a minimum 3 years' follow-up to determine the degree of meniscal extrusion. The time between surgery and MRI evaluation was 40 months (range, 36-48 months) in both groups. Meniscal extrusion was measured on coronal MRI. The percentage of the meniscal body width that was extruded was calculated. The average percentage of extrusion for each group was compared. The Lysholm score was analyzed in relation to the fixation method and degree of meniscal extrusion. Tears of the allograft that required surgical intervention were also reported.

Results: The average percentage of meniscal tissue extruded in group A was $36.3\% \pm 13.7\%$ without differences between the medial ($35.9\% \pm 18.1\%$) and lateral ($38.3\% \pm 14.4\%$) compartments ($P = .84$). Group B had a mean $28.13\% \pm 12.2\%$ of the meniscal body extruded without differences between the medial ($25.8\% \pm 16.2\%$) and lateral ($30.14\% \pm 13.5\%$) compartments. A higher percentage of extruded meniscal tissue was found in group A than in group B ($P < .001$). No association between the degree of meniscal extrusion and the functional score was observed ($P = .4$). Graft tears were observed in 21.4% of the cases in group A and in 7.3% of the cases in group B ($P = .09$).

Conclusion: A meniscal allograft fixed with the suture-only technique showed a significantly higher degree of extruded meniscal body than that fixed with the bony fixation method, with no influence on the functional outcome. There was also a considerably higher rate of graft tears observed in those menisci fixed only with sutures, although this difference was not statistically significant with the numbers available.

Keywords: meniscal transplantation; meniscal extrusion; meniscal allograft; meniscal fixation

The transplantation of a meniscus as a free graft was developed in Germany in the mid 1980s²¹ in an attempt to replace damaged tissue and to prevent progressive deterioration of the joint that occurs after meniscectomy.^{11,17}

†Address correspondence to Pablo Eduardo Gelber, MD, PhD, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Sant Quintí 89, 08041, Barcelona, Spain (e-mail: pablogelber@gmail.com).

*Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain.

†ICATME-Institut Universitari Dexeus, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain.

The authors declared that they have no conflicts of interest in the authorship and publication of this contribution.

The American Journal of Sports Medicine, Vol. 40, No. 7
DOI: 10.1177/0363546512446674
© 2012 The Author(s)

One of the goals of a meniscal transplant is to restore the mechanical properties of the meniscectomized knee. Most cadaveric studies have shown that secure anatomic fixation of bone plugs is required to restore the normal contact mechanics for medial and lateral allografts, whereas the joint load distributions are similar to meniscectomized knees when only suture fixation is performed.^{3,7,24}

When the meniscus is partially or totally displaced beyond the tibial margin, it is defined as meniscal extrusion. It has been suggested that if the meniscus is extruded beyond the tibial plateau edge, leaving the articular surface of the tibia uncovered, it will not fulfill all its functions.³⁵ Consequently, the meniscus would not adequately absorb the load applied to the tibial cartilage. This might imitate the effect of a meniscectomy, which alters the physical behavior of the knee joint.¹² In meniscal

TABLE 1
Composition of Both Groups Before Surgery^a

Variable	Group A	Group B	Significance (P)
Age, y	38.8 ± 6.3	35.7 ± 7.9	.06
Gender, male/female, %	27/73	40/60	.12
Lysholm	65.4 ± 11.6	62.3 ± 9	.03
Tegner	3.1 ± 2.1	3.4 ± 1.4	.21
Visual analog scale	6.4 ± 2	6.7 ± 2	.07
Radiographic joint space narrowing, mm	3.2 ± 1.2	3.1 ± 1.5	.44
Ahlbäck grade 0/I/II, %	9.1/54.5/36.4	12.7/49.1/38.2	.18

^aValues expressed as mean ± standard deviation unless otherwise indicated.

allograft transplantation, extrusion of the graft might minimize some of its beneficial effects.

There is no agreement with respect to the amount of meniscal subluxation that can be considered physiological. Several studies used 3 mm as a threshold value for meniscal extrusion.^{8,9} However, instead of a fixed measure and to standardize the results, Miller et al²² defined meniscal extrusion as when more than 25% of the meniscal body width is beyond the tibial margin. However, the percentage that can be considered as normal in cases of meniscal allograft transplantation is still controversial.

Little about the incidence and predisposing factors relative to meniscal extrusion has been described. Osteoarthritic knees are known to present a high incidence of meniscal extrusion.⁴ However, it has been recently demonstrated that meniscal extrusion is much more common in nonosteoarthritic knees than had been previously thought.²⁶

Most of the published series of transplanted menisci showed good knee function but consistently showed some degree of allograft extrusion.^{14,18,33} It has been speculated that this meniscal extrusion could be caused by the soft tissue technique used to fix the allograft.³ This is still a speculation, and it might be, in part, because of the lack of clinical studies comparing meniscal extrusion in meniscal grafts fixed only with sutures versus meniscal grafts that include bony fixation.

The aim of this study was to determine, on a midterm basis, whether the fixation method of the transplanted menisci had any influence on the degree of meniscal extrusion. The hypothesis was that the percentage of extruded meniscal graft would be higher if the allograft was only fixed with sutures.

MATERIALS AND METHODS

Between 2001 and 2008, a prospective study was performed on 88 consecutive patients who underwent meniscal allograft transplantation (MAT). The senior surgeon (J.C.M.) performed all the surgical procedures. Informed consent was obtained from each patient following the guidelines laid down by our local Ethics Committee. The inclusion criterion was joint line pain due to a previous meniscectomy. Although no relationship has been established between malalignment and meniscal extrusion, malalignment was

considered an exclusion criterion. Normal alignment was considered up to 5° varus alignment and 7° valgus alignment. Patients who had an Ahlbäck grade² greater than grade II with posteroanterior 45° flexion weightbearing radiographs were also excluded. Finally, only patients with a body mass index below 30 were included.

The series was composed of 56 men (64%) and 32 women (36%) with a mean age of 37.26 years (range, 15-51 years). Forty transplantations (45%) were performed to replace the medial meniscus and 48 (55%) to replace the lateral meniscus. Fifty-four (61%) were performed on right knees and 34 (39%) on left knees. The first 33 of the grafts (37.5%) were fixed with a suture-only technique (group A) and the following 55 cases (62.5%) with associated bony fixation (group B). Both groups were comparable in terms of age, gender, and radiographic as well as functional preoperative state (Table 1).

Surgical Technique

Fresh-frozen (-80°C), nonirradiated, non-antigen matched meniscal allografts were used in this series. Local authorized tissue banks supplied the allografts. Allograft sizing was done according to the method described by Pollard et al.²⁵

The surgical technique was completely arthroscopic. 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. In those allografts corresponding to group A, No. 2 high-strength sutures (FiberWire, Arthrex, Naples, Florida) with a Krackow mattress were placed at both horns. In those patients corresponding to group B, a 6-mm-diameter and 10-mm-long bone plug was left on each horn, and a No. 2 FiberWire suture (Arthrex) was passed through a 1.5-mm tunnel drilled transversally in each bone plug. One additional vertical mattress suture was placed at the junction between the posterior horn and the body of the meniscus in every allograft of both groups. The posterior-horn suture was used to pull the meniscal allograft in place. The additional vertical suture aids in situating the graft because it is first retrieved from the posterolateral or posteromedial corner with an outside-in technique and pulled when the graft is being introduced into the joint. The allograft was then well fixed to the rim by use of either an inside-out technique with vertical mattress sutures (SharpShooter,

ConMed Linvatec, Largo, Florida) or an all-inside technique (FasT-Fix, Smith & Nephew, Andover, Massachusetts). Finally, the sutures placed in the anterior and posterior horns or through the bone plugs of each horn were tied together over the tibial cortical surface.

Magnetic Resonance Imaging (MRI) Evaluation

To determine the degree of meniscal extrusion, all 88 patients underwent an MRI examination on the operated knee joint in the supine position with full knee extension before surgery and between 36 and 48 months of follow-up. All studies were performed with a 1.5-T superconducting magnet (Prestige 2T, Elscint, Haifa, Israel) using a knee-specific circular coil. A positioning device for the ankle was used to ensure uniformity. The standard knee protocol for each patient consists of the following sequence: axial fast spin echo T2-weighted with fat saturation (repetition time [TR], 2300 msec; echo time [TE], 30 msec; flip angle [FA], 90°; slice thickness [ST], 3 mm; field of view [FOV], 20 cm), coronal fast spin echo intermediate-weighted (TR, 2500 msec; TE, 30 msec; FA, 90°; ST, 4 mm; FOV, 18 cm), sagittal spin echo intermediate-weighted (TR, 700 msec; TE, 14 msec; FA, 90°; ST, 4 mm; FOV, 18 cm), and sagittal fast spin echo T2-weighted with fat saturation (TR, 2500 msec; TE, 85 msec; FA, 90°; ST, 4 mm; FOV, 18 cm).

The MRI scans of the cases were individually evaluated twice by 2 of the authors and then averaged. It was performed using the PACS workstation (Centricity Enterprise Web V3.0, General Electric Healthcare, Milwaukee, Wisconsin). The evaluators were blinded to the type of MAT fixation technique by only allowing them to observe the selected coronal image. Thus, these authors could not scroll through the MRI scans, as it would have allowed them to see when any bone plug was present. The intraclass correlation coefficient was calculated. Values ranged between 0 (poor) to 1 (excellent) agreement.

Based on the work performed by Puig et al,²⁶ meniscal extrusion was measured in those coronal images where extrusion was maximum with the use of an MRI-generated scale on each image. Those coronal images usually coincided at the level of the corresponding collateral ligaments.²⁹

The measurement was performed by first drawing 2 lines. The first one was a vertical line that intersected the peripheral margin of the medial/lateral tibial plateau at the point of transition from horizontal to vertical. Next, a perpendicular line was drawn from the outer margin of the meniscus to the former line. The perpendicular line's length in millimeters was defined as the amount of meniscal extrusion.⁹ Based on the study performed by Costa et al,⁹ when subluxation of the meniscus was <3 mm, it was considered *minor* extrusion. Conversely, when the measured extrusion was >3 mm, it was defined as *major* extrusion. Afterward, the percentage of extruded meniscus size was calculated to standardize the results (Figure 1). This was performed by dividing each measurement of meniscal extrusion by the total measured width of the meniscus in the same MRI scan.



Figure 1. Magnetic resonance image showing the used method for meniscal extrusion calculation. Distance ab, meniscal extrusion in mm; $ab/ac \times 100$, percentage of meniscal extrusion.

The number of major and minor extrusions as well as the percentage of extruded meniscal tissue observed were compared between group A and group B. Then, the differences between the degrees of graft extrusion of the transplanted medial menisci versus the transplanted lateral menisci into each group were also calculated.

Tears of the allograft that required surgical intervention were also reported on. Functional evaluation at final follow-up with the 100-point Lysholm score was also reported and compared between groups. Although the series is consecutive, the evaluations of functional scores corresponding to a similar follow-up period were done at the same time. This was possible as all the patients completed a Lysholm score questionnaire at each of their yearly follow-up visits. In addition, the relationship between the functional status and the percentage of meniscal extrusion was also calculated.

Statistical Analysis

Categorical variables are presented as percentages and frequencies. Continuous variables are presented as mean \pm standard deviation. Interobserver agreement was analyzed using the intraclass correlation coefficient. In those relevant cases, a 95% confidence interval was calculated. The Pearson correlation coefficient was also calculated. The relationships between categorical variables were described with contingency tables. The inference was studied with the χ^2 test or Fisher exact test depending on what corresponded. Meniscal extrusion rates and functional scores were compared between the 2 groups using the Student *t* test. Multiple linear regression analysis was used to determine whether meniscal extrusion and functional

TABLE 2
Differences in Major and Minor Meniscal Extrusion Grades Between Groups

Extrusion Grade	Group A (n = 33)	Group B (n = 55)	Significance (P)
Minor	9 knees (27.3%)	38 knees (69.1%)	<.001
Major	24 knees (72.7%)	17 knees (30.9%)	<.001

evaluation were associated. The meniscal extrusion of medial and lateral compartments was defined as independent or explanatory variables. Results of multiple linear regression analyses were summarized using coefficients of determination and P values.

Statistical analysis was performed using SPSS 19 (SPSS Inc, Chicago, Illinois). Statistical significance was set at .05.

RESULTS

No patients were lost during follow-up. Based on the aforementioned extrusion criteria, 47 knees (53.4%) had minor graft extrusion (2.31 ± 0.52 mm), and 41 (46.6%) had major graft extrusion (3.85 ± 0.64 mm). However, while group A showed grafts with major extrusion in 72.7% of the cases, only 30.9% of the patients in group B had major graft extrusion (P < .001) (Table 2).

The percentage of extruded meniscal tissue in group A was 36.3% ± 13.7%. No difference (P = .84) between the medial (35.9% ± 18.1%) and lateral (38.3% ± 14.4%) compartments was observed. Group B had a mean percentage of meniscal body with extrusion of 28.13% ± 12.2%. Differences between the medial (25.8% ± 16.2%) and lateral (30.14% ± 13.5%) compartments were not observed either. When comparing the degree of meniscal extrusion with the type of fixation employed, a higher percentage of extruded menisci was found in group A in both compartments (P < .001) (Table 3).

With regard to the functional results assessed with the Lysholm score, an overall improvement was obtained. The final follow-up score in group A was 88.6 ± 7 and in group B was 91.2 ± 7 (P = .38). Additionally, when the Lysholm score was compared with the degree of meniscal extrusion, no relationship was observed (Pearson correlation coefficient, -1.117; P = .4).

There were 7 graft tears in group A (21% of the cases). Four of them had later loss of allograft fixation requiring refixation. The allograft had to be completely removed in the remaining 3 cases, and they were obviously excluded for the meniscal extrusion analysis. Conversely, in group B, only 4 graft tears (7.3% of the cases) were observed after a minimum follow-up of 40 months (P = .09). Two ruptures of grafts required refixation, whereas the allografts had to be completely removed in the remaining 2 cases. The intra-class correlation coefficient (.89) as well as the Pearson correlation coefficient (.91) for the interobserver agreement both qualified as excellent.¹⁵

TABLE 3
Differences in Percentage of Meniscal Tissue Extrusion Between Groups^a

Extrusion	Group A	Group B	Significance (P)
Global	36.3 ± 13.7	28.13 ± 12.2	<.001
Medial compartment	35.9 ± 18.1	25.8 ± 16.2	<.001
Lateral compartment	38.3 ± 14.4	30.14 ± 13.5	<.001

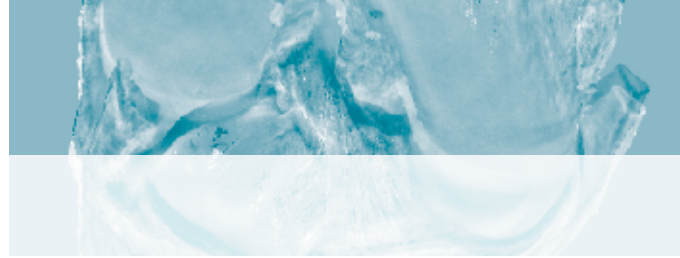
^aValues expressed as mean ± standard deviation.

DISCUSSION

Transplanted menisci fixed with a suture-only technique showed a higher percentage of extruded tissue than those performed with the bony fixation technique. Although the differences were small, this confirmed our hypothesis. In addition, a considerably higher percentage of graft tears were observed in group A. It is unclear whether the latter is because of this higher tendency to extrude the menisci only fixed with sutures. However, the higher graft extrusion and graft tear rate observed in group A might have a relationship to the inferior biomechanical performance reported in the literature when the meniscal allograft does not include bony fixation.^{3,7,24}

Although there is no agreement with respect to the amount of meniscal subluxation that can be considered physiological, most studies used a fixed measure of 3 mm as a threshold value for meniscal extrusion.^{8,9} When a native meniscus is subluxated more than 25%, it can also be considered abnormal.²² Nevertheless, assessing the percentage of allograft extrusion instead of a fixed measure might be more reliable, as it avoids the influence of the variability in knee sizes. While the percentage of meniscal extrusion in MAT that can be considered as normal also remains controversial, the present study focused on the differences in meniscal extrusion observed in the 2 fixation techniques performed instead of considering whether the extrusion observed should be considered physiological or not.

Most of the published series of transplanted menisci showed good knee function but consistently showed some degree of allograft extrusion.^{8,9,14,18,24,26,33} Whether MAT provides some chondroprotective effect is up for debate,^{10,30} but a recent experimental study with an animal model has shown less cartilage degeneration after MAT compared with meniscectomy.¹⁶ Some studies have suggested that allograft extrusion may lead to increased degeneration of the cartilage and graft failure.²⁸ Some relationship between meniscal allograft extrusion with a meniscal tear and early osteoarthritis has also been found.^{1,13} A higher degree of medial meniscal extrusion in the symptomatic osteoarthritic knee in comparison with the asymptomatic knee has been also reported.^{1,4,13} It has been speculated that allograft meniscal extrusion may be caused by the soft tissue technique used to fix the graft.³ This is in agreement with the results observed in the current study. However, no differences in clinical outcomes have been shown when analyzing



the published series performed with different graft fixation methods,¹⁰ which is also in concordance with the functional results observed in the present investigation. This may be attributable to several factors. First, the present study has shown only small differences in meniscal extrusion between the suture-only and bony fixation techniques. Second, other MAT series were in contrast with our findings and have shown the same proportion of graft extrusion with different fixation techniques performed.^{14,18,33} Third, no differences in the progression of cartilage degeneration between the group with graft extrusion and the one without graft extrusion have been reported.³⁴ In addition, no radiological differences between the amount of extrusion and degree of joint space narrowing have been recently documented.¹⁸ Finally, and most importantly, meniscal allograft extrusion tends to be stable over the long term, and clear clinical relevance has not been proven to exist.¹⁹ This was also supported in the present study when the degree of meniscal extrusion had no influence on the functional outcome of the patients.

Meniscal subluxation can often be seen in nonarthritic asymptomatic knees.^{4,6,27} Although the reported ratio of extrusion of native menisci is variable,^{13,23} it is clear that meniscal extrusion is more common in transplanted menisci than in normal knees.⁹ Ha et al.¹⁴ in their series of meniscal transplantation performed with a bony fixation technique, reported a mean percentage of extruded meniscal tissue of 42.1% and a major extrusion rate in 75% of their patients. This is similar to the results observed in the suture-only fixation group of the present study. On the other hand, the bony fixation group showed a considerably lower degree of graft subluxation as well as a lower percentage of patients with major extruded grafts in the current investigation. A recent study performed by Lee et al.¹⁹ has shown a global extrusion percentage of 33% and a mean relative graft extrusion percentage of 29.2% at 6 weeks, 29.4% at 3 months, 32.4% at 6 months, and 31.9% at 1-year follow-up in meniscal grafts performed with bony fixation. This rate is similar to the results found in the current investigation, but with a much longer follow-up. However, it seems that the percentage of tissue extrusion does not progressively rise and tends to be stable over time.¹⁹ The mean 36.3% of extruded meniscal tissue observed in the group with only soft tissue fixation was statistically higher than the 28.13% seen in the group with bony fixation. Although the slight difference might suggest no clinical relevance, the major extrusion observed in group A was twice that of group B. These findings suggest that isolated soft tissue fixation more easily allows the grafts to extrude.

The studies conducted by van Arkel et al.^{31,32} showed, in their series performed with an open technique and fixed only with sutures, that the graft subluxated or even completely displaced over the peripheral border of the tibial plateau in 87.5% of their cases. This was in close agreement with the 70.6% extrusion rate observed in the Verdonk et al study³⁴ performed with a similar surgical technique, but after more than 10 years of follow-up.

Although those previous reports did not reveal correlations between meniscal extrusion and other parameters, meniscal extrusion may have adverse effects on long-term

clinical results. It has been speculated that this meniscal extrusion might be caused by degeneration and tears of the meniscus, reducing the resistance to hoop strain,⁹ or caused by the soft tissue technique used to fix the allograft,³ leading to loosening of the graft's meniscocapsular attachment.⁶ Thus, improvement in the surgical techniques and biomechanical studies of these phenomena are necessary to reduce or prevent these effects. Lee et al.¹⁸ suggested various techniques to reduce meniscal extrusion, including the use of the bone plug method to achieve firm fixation. In fact, the current study is the first investigation of MAT that reports a difference in meniscal extrusion between 2 different fixation techniques. Although not statistically significant probably because of its low occurrence, it also shows a considerably higher graft tear rate in those menisci fixed only with sutures. This might suggest a cause and effect relationship between the suture-only fixation, graft tears, and extrusion. This is still a matter of speculation.

One limitation of this work is that, although prospective, the study was not randomized as the first 33 patients were assigned to group A and the following cases to group B. We started the meniscal transplantation procedures, performing the suture-only technique in more than 50 cases. Because of an initial perception of there being a high degree of mechanical failures and the experimental scientific data supporting bony fixation,³ the decision was made to switch to a bony fixation technique. It is important to remark that to minimize the learning curve, the patients included in group A were the last 33 patients operated with the suture-only technique. In addition, both groups were comparable in terms of age, gender, and radiographic and functional preoperative state. Another weakness was the lack of a control group of untreated knees. However, the main limitation of the study was that extrusion was assessed in static images taken in the supine decubitus position. Boxheimer et al.⁵ showed, in an MRI study, that the meniscus moves from posterior to anterior as the knee goes into flexion and that maximum extrusion was found in the weightbearing position. Although this is a common limitation observed in the studies of this area,^{20,26,29} it cannot be considered a reason to completely justify this weakness of the study design. The fact that the same condition was uniformly distributed among all the patients in both groups minimizes this limitation. Regardless of the aforementioned limitations, our study provides the first analysis of the relationship between the fixation method used in MAT and the percentage of extruded meniscal allograft.

CONCLUSION

Meniscal allografts fixed with a suture-only technique had a slightly higher degree of extruded meniscal body than those fixed with the bony fixation method, with no influence on the functional outcome. There was also a considerably higher rate of graft tears observed in those menisci fixed only with sutures, although this difference was not statistically significant with the numbers available.



ACKNOWLEDGMENT

We are grateful to Ignaci Gich for assisting in the statistical analysis. We also thank Eric Goode for his help in correcting the article.

REFERENCES

- Adams JG, McAlindon T, Dimasi M, Carey J, Eustace S. Contribution of meniscal extrusion and cartilage loss to joint space narrowing in osteoarthritis. *Clin Radiol*. 1999;54:502-506.
- Ahlbäck S, Rydberg J. X-ray classification and examination techniques in gonarthrosis. *Lakartidningen*. 1980;77:2091-2093.
- Alhalki MM, Howell SM, Hull ML. How three methods for fixing a medial meniscal autograft affect tibial contact mechanics. *Am J Sports Med*. 1999;27:320-328.
- Bennett LD, Buckland-Wright JC. Meniscal and articular cartilage changes in knee osteoarthritis: a cross-sectional double-contrast macroradiographic study. *Rheumatology*. 2002;41:917-923.
- Boxheimer L, Lutz AM, Treiber K, et al. MR imaging of the knee: position related changes of the menisci in asymptomatic volunteers. *Invest Radiol*. 2004;39:254-263.
- Breitenseher MJ, Trattng S, Dobrocky I, et al. MR imaging of meniscal subluxation in the knee. *Acta Radiol*. 1997;38(5):876-879.
- 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.
- Choi CJ, Choi YJ, Lee JJ, Choi CH. Magnetic resonance imaging evidence of meniscal extrusion in medial meniscus posterior root tear. *Arthroscopy*. 2010;26:1602-1606.
- Costa CR, Morrison WB, Carrino JA. Medial meniscus extrusion on knee MRI: is extent associated with severity of degeneration or type of tear? *AJR Am J Roentgenol*. 2004;183:17-23.
- Crook TB, Ardolino A, Williams LA, Barlow IW. Meniscal allograft transplantation: a review of the current literature. *Ann R Coll Surg Engl*. 2009;91:361-365.
- DeHaven KE. Meniscus repair. *Am J Sports Med*. 1999;27:242-250.
- Englund M, Lohmander LS. Risk factors for symptomatic knee osteoarthritis fifteen to twenty-two years after meniscectomy. *Arthritis Rheum*. 2004;50:2811-2819.
- Gale DR, Chaisson CE, Totterman SM, Schwartz RK, Gale ME, Felson D. Meniscal subluxation: association with osteoarthritis and joint space narrowing. *Osteoarthritis Cartilage*. 1999;7:526-532.
- Ha JK, Shim JC, Kim DW, Lee YS, Ra HJ, Kim JG. Relationship between meniscal extrusion and various clinical findings after meniscus allograft transplantation. *Am J Sports Med*. 2010;38:2448-2455.
- Hale CA, Fleiss JL. Interval estimation under two study designs for kappa with binary classifications. *Biometrics*. 1993;49:523-534.
- Kelly BT, Potter HG, Deng XH, et al. Meniscal allograft transplantation in the sheep knee: evaluation of chondroprotective effects. *Am J Sports Med*. 2006;34:1464-1477.
- Lanzer WL, Komenda G. Changes in articular cartilage after meniscectomy. *Clin Orthop Relat Res*. 1990;252:41-48.
- Lee DH, Kim SB, Kim TH, Cha EJ, Bin SI. Midterm outcomes after meniscal allograft transplantation: comparison of cases with extrusion versus without extrusion. *Am J Sports Med*. 2010;38:247-254.
- 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.
- Magee T. MR findings of meniscal extrusion correlated with arthroscopy. *J Magn Reson Imaging*. 2008;28:466-470.
- Milachowski KA, Weismeyer K, Wirth CJ. Homologous meniscus transplantation: experimental and clinical results. *Int Orthop*. 1989;13:1-11.
- Miller TT, Staron RB, Feldman F, Cepel E. Meniscal position on routine MR imaging of the knee. *Skeletal Radiol*. 1997;26:424-427.
- Noyes FR, Barber-Westin SD, Rankin M. Meniscal transplantation in symptomatic patients less than fifty years old. *J Bone Joint Surg Am*. 2005;87 Suppl 1:149-165.
- Paletta GA Jr, 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. *Am J Sports Med*. 1997;25:692-698.
- Pollard ME, Kang Q, Berg EE. Radiographic sizing for meniscal transplantation. *Arthroscopy*. 1995;11:684-687.
- Puig L, 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.
- Rennie WJ, Finlay DB. Meniscal extrusion in young athletes: associated knee joint abnormalities. *AJR Am J Roentgenol*. 2006;186:791-794.
- Sekaran SV, Hull ML, Howell SM. Nonanatomic location of the posterior horn of a medial meniscal autograft implanted in a cadaveric knee adversely affects the pressure distribution on the tibial plateau. *Am J Sports Med*. 2002;30:74-82.
- Sharma L, Eckstein F, Song J, et al. Relationship of meniscal damage, meniscal extrusion, malalignment, and joint laxity to subsequent cartilage loss in osteoarthritic knees. *Arthritis Rheum*. 2008;58:1716-1726.
- Szomor ZL, Martin TE, Bonar F, Murrell GA. The protective effects of meniscal transplantation on cartilage: an experimental study in sheep. *J Bone Joint Surg Am*. 2000;82:80-88.
- van Arkel ER, de Boer HH. Human meniscal transplantation: preliminary results at 2 to 5-year follow-up. *J Bone Joint Surg Br*. 1995;77:589-595.
- van Arkel ER, Goel R, de Ploeg I, de Boer HH. Meniscal allografts: evaluation with magnetic resonance imaging and correlation with arthroscopy. *Arthroscopy*. 2000;16:517-521.
- Verdonk P, Depaeppe 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.
- Verdonk PC, 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.
- Wang Y, Wluka AE, Pelletier JP, et al. Meniscal extrusion predicts increases in subchondral bone marrow lesions and bone cysts and expansion of subchondral bone in osteoarthritic knees. *Rheumatology*. 2010;49:997-1004.

For reprints and permission queries, please visit SAGE's Web site at <http://www.sagepub.com/journalsPermissions.nav>



TRABAJO n.3

Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc (2012) 20:1681–1688
DOI 10.1007/s00167-011-1722-7

EXPERIMENTAL STUDY

Host serum is not indispensable in collagen performance in viable meniscal transplantation at 4-week incubation

Pablo Eduardo Gelber · Raúl Torres ·
Natalia Garcia-Giralt · Juan Erquicia ·
Ferran Abat · Juan Carlos Monllau

Received: 27 June 2011 / Accepted: 11 October 2011 / Published online: 22 October 2011
© Springer-Verlag 2011

Abstract

Purpose Viable meniscal transplantation has been criticized as an expensive and logistically demanding technique. The purpose was to compare the standard culture medium with another culture medium that is more widely available and easier to work with and to assess the collagen net ultrastructure architecture and the capacity of the preserved cells to produce proteins.

Methods Ten fresh lateral menisci were harvested. Each meniscus was divided into three parts; control group, fetal-bovinum-serum group and Insulin-Transferrin-Selenium group during 4 weeks. Cell metabolism was assessed with the gene expression of type I collagen, type II collagen and aggrecan. Collagen ultrastructure was assessed with transmission electron microscopy. The Collagen Meniscal Architecture scoring system was used to evaluate the degree of meniscal disarray.

Results Type I collagen was expressed more in the fetal-bovinum-serum group than in the ITS group ($P = 0.036$). No differences were found between cultured samples and control groups. Type II collagen showed decreased expression in both cultured groups compared with the control group. No differences were observed in the gene expression of aggrecan in either group. No differences were observed when the Collagen Meniscal Architecture scoring system was applied.

Conclusions Insulin-Transferrin-Selenium-supplemented medium is at least as effective as the fetal-bovinum-serum-supplemented medium to preserve the net architecture of the meniscal tissue. Gene expression of the studied proteins was similar in the Insulin-Transferrin-Selenium group to that observed in the control group at 4 weeks. Insulin-Transferrin-Selenium might be a better alternative and might be used instead of fetal-bovinum-serum or an autologous host serum in order to preserve meniscal tissue, which precludes the necessity of obtaining host serum previously. Thus, viable meniscal transplantation would logistically be less complicated to perform.

P. E. Gelber (✉) · F. Abat · J. C. Monllau
Department of Orthopaedic Surgery, Hospital de Sant Pau,
Universitat Autònoma de Barcelona,
Sant Antoni Maria Claret,
167, 08025 Barcelona, Spain
e-mail: pablogelber@gmail.com

P. E. Gelber · J. Erquicia · J. C. Monllau
ICATME-Institut Universitari Dexeus,
Universitat Autònoma de Barcelona,
Sabino de Arana 5-19, 08017 Barcelona, Spain

R. Torres
Department of Orthopaedic Surgery, Parc de Salut Mar,
Universitat Autònoma de Barcelona, Passeig Marítim 25-29,
08003 Barcelona, Spain

N. Garcia-Giralt
URFOA-IMIM, Universitat Autònoma de Barcelona,
Doctor Aiguader 88, 08003 Barcelona, Spain

Keywords Meniscus · Insulin-Transferrin-Selenium · Allograft · Viable meniscal transplantation · Fetal bovine serum · Menisci preservation

Introduction

Isolated allograft meniscus transplantation was first performed in 1984 by Milachowky et al. [16]. Since then, it has become an increasingly used option for the treatment of knee pain after total meniscectomy.

Controversies still exist relative to meniscal transplantation. Regarding meniscal preservation techniques,

different methods are currently used to keep menisci allografts in an acceptable condition until transplantation. Lyophilization is no longer used as it has been shown to alter the size and characteristics of the meniscal tissue leading to poor clinical results [24]. Freezing has been accepted as a simple and reliable way of preserving those tissues that only have to retain mechanical and some biochemical properties. It has been shown, in an animal model, to maintain the ultrastructure of the collagen net [8]. However, Gelber et al. [11] have more recently refuted this affirmation showing that, when ultrastructurally studied, the freezing process led to severe architectural disarray. Conversely, cryopreservation has been shown not to alter its biomechanical properties [12]. In addition, the main theoretical advantage of cryopreservation might be that it does not destroy cells. This was also recently questioned, as different ranges of cell survival have been observed with this technique [12, 23].

Regardless, fresh allografts may be advantageous as not only does it not destroy cells but it also keeps them viable by producing proteoglycans and collagen fiber structures. Thus, a normal or nearly normal cellular function can be expected from the moment of implantation [1, 4, 23]. Verdonk and Khon [23] showed that menisci can be safely kept at 4°C in sterile tissue culture medium solution for up to 15 days without a remarkable loss of cell viability.

It has been demonstrated that cellular repopulation occurs in the meniscal allograft after transplantation even if there are no viable cells in the time of surgery [2, 17, 18, 25]. However, donor DNA in the viable human meniscal allograft has been detected for as long as sixty-four months after transplantation, indicating that donor cells survive for a long period of time [21]. Thus, the replacement process by host cells is probably slower in the human model, suggesting the superiority of a preserving system that is able to maintain the cell viability. In this controversial debate, other authors [3] have shown that sometime after transplantation the allograft meniscus nearly has only host DNA. Therefore, it suggests that cell viability is not as important as preservation of the collagen net architecture.

Fresh meniscus allograft has been shown to remain viable after 2 weeks in the Dulbecco modified Eagle's medium (DMEM; Gibco Invitrogen, Merelbeke, Belgium) supplemented with 20% of autologous serum [22, 23]. In *in vitro* studies, the autologous serum is replaced with fetal-bovinum-serum, which has shown its effectiveness in preserving the meniscal collagen net and cell viability for 2 weeks [20]. The exact composition of the fetal-bovinum-serum is not well known, and it has great variability depending on the source of the serum. Insulin-Transferrin-Selenium is a product that is commonly used to supplement chondrocyte culture mediums [7, 9, 26]. This is a controlled medium, available in any laboratory. Its

composition is well known; it is a potential culture medium that can be used to maintain meniscal tissue for clinical use and avoids the need of host serum. On the other hand, Insulin-Transferrin-Selenium medium does not contain growth hormones, which in theory are of utmost importance to maintain a proper cell metabolism. However, specific growth hormones in a specific quantity can be easily added if needed. As far as we know, the use of the Insulin-Transferrin-Selenium solution to supplement mediums for meniscal tissue conservation has not been described. In addition, although the recommended 2-week window for safe transplantation after harvesting appears to work well according to previous studies [22, 23], it might not contribute to the widespread use of this technique for obvious time-relative limitations.

The aim of this study was to assess the meniscal tissue in terms of cell metabolism and collagen net ultrastructure architecture, comparing the standard laboratory culture medium supplemented with 20% of fetal-bovinum-serum with other medium supplemented with 1% of Insulin-Transferrin-Selenium after 4 weeks of the harvesting. Our first hypothesis was that an Insulin-Transferrin-Selenium-supplemented medium would maintain the collagen meniscal architecture and cell viability for up to 4 weeks after harvesting. The second hypothesis was that this ability of the Insulin-Transferrin-Selenium solution would be at least as good as that of a fetal-bovinum-serum-supplemented medium.

Materials and methods

Meniscal harvesting

Ten fresh human lateral menisci were harvested in sterile conditions during total knee replacement procedures (6 women, 4 men). The study group had a median age of 70 years (range 64–79). Informed consent was obtained from each donor following the guidelines laid down by our local Ethics Committee. Five of the menisci were obtained from the right side, and the other five from the left side. 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 radiograph 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. Eight menisci did not meet these criteria, so they were excluded, and another eight were consecutively harvested. Collagen and cell distribution vary between the inner, the central and the outer section of the meniscus [6]. Thus,

only the central region of the body of each meniscus was used. The inner and the outer region of each corresponding body of the menisci were discarded. This central zone of each meniscus was divided into six sections in the surgical theatre in sterile conditions. One of these sections was then sectioned into 1 mm³ slices and preserved in a 2.0% glutaraldehyde solution. At no more than 2 h of harvesting, a pathologist prepared the samples for analysis with transmission electron microscopy. This section was used as a control group. The other five pieces of the meniscus were placed in a sterile receptacle with DMEM medium, and they were sent to the laboratory.

Meniscus culture

One of the pieces of each meniscus was diced and incubated within an hour of harvesting with RNeasy (Qiagen) overnight at 4°C, and then, it was cryopreserved at -80°C for gene expression assessment. This sample (not cultured) was also used as a control group. The other four sections were placed into a 15-ml polystyrene centrifuge tube, and the culture medium was added up to the total volume required to cover the sample. The menisci were cultured with DMEM and supplemented either with 20% fetal-bovinum-serum or with 1% Insulin-Transferrin-Selenium and 50 µg/ml ascorbic acid at 37°C in a 5% CO₂ humidified atmosphere during 28 days. The medium solution was changed every 3–4 days.

Two of the sections of the menisci were used for RNA quantification. One sample was cultured in a medium supplemented with fetal-bovinum-serum, and the other sample was cultured with a medium supplemented with Insulin-Transferrin-Selenium. They were diced and incubated with RNeasy overnight at 4°C prior to storage at -80°C. The menisci used for transmission electron microscopy analysis were fixed with 2.0% glutaraldehyde solution. Figure 1 summarizes the transmission electron microscopy and gene expression protocol for each harvested meniscus.

Total RNA isolation and gene expression quantification of cartilage matrix proteins

The 2 sections of the menisci that were used for RNA quantification and cultured in a medium supplemented with fetal-bovinum-serum and in another supplemented with Insulin-Transferrin-Selenium were suspended in 1 ml of Tri Reagent (Molecular Research Center, inc.) and homogenized using a T8 Ultra-Turrax homogenizer (IKA), and finally, the RNA was extracted according to Tri Reagent manufacturer instructions. Seven µl of total RNA was used to synthesize the DNA complementary strain according to the protocol of TaqMan[®] Reverse Transcription Reagents (Applied Biosystems, Foster City, USA). TaqMan probes and primers for all

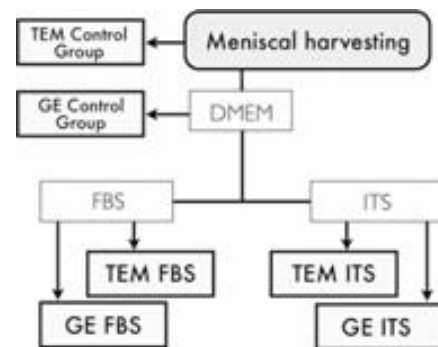


Fig. 1 Harvesting and processing protocol for each harvested meniscus. *DMEM* Dulbecco modified Eagle's medium, *TEM* sample sent to be studied with transmission electron microscopy, *GE* sample sent to be for gene expression evaluation of type I and II collagen and aggrecan, *FBS* sample to be cultured with 20% of fetal-bovinum-serum medium, *ITS* sample to be cultured with 1% of Insulin-Transferrin-Selenium medium

genes were obtained as inventoried assays from Applied Biosystems. The product was diluted by half with RNase-free pure water, and 1 µl of the resultant solution was used to determine gene expression, aggrecan (AGC1), type I collagen (COL1A1) and type II collagen (COL2A1), using quantitative real-time PCR (all reagents were obtained from Applied Biosystems). Quantitative real-time PCR and its subsequent analysis were performed according to the manufacturer instructions. Real-time PCR was conducted in a volume of 20 µl containing gene-specific Assay on Demand primers, TaqMan-MGB probe and 10 µl TaqMan Universal PCR MasterMix 2X (Applied Biosystems) reacted in the following sequence: 2 min at 50°C, 10 min at 95°C followed by 40 cycles of 15 s at 95°C and 60 s at 60°C each cycle in 384-well plates with the ABI PRISM 7900 HT Detection System (Applied Biosystems). The results were analyzed using SDS TM Software 2.3 (Applied Biosystems), and the expression levels were calculated against 18S expression and then normalized to an internal sample (relative quantification) using arbitrary units. All real-time PCRs for each sample were performed in triplicate. Real-time PCR for 18S was carried out under the same conditions using an 18S endogenous control Assay on Demand (Applied Biosystems) for normalization purposes. Relative quantification of gene expression was performed using the comparative Ct method ($\Delta\Delta C_t$ method) with one sample from the experiment as a reference sample (one sample cultured in Insulin-Transferrin-Selenium). The *Repeatability* (short-term precision or intra-assay variance) of the method has a Ct SD among replicates lower than 0.3. The *Reproducibility* (long-term precision or interassay variance) of the technique has a max SD in Ct interassay of 2.5 (Biosystems A. User Bulletin #2. ABI Prism 7700 Sequence Detection System. In; December 11, 1997; updated 10/2001).

Transmission electron microscopy procedure

The architectural state of the menisci was analyzed with transmission electron microscopy. The changes observed were quantified and qualified according to the previously described scoring system [7, 8].

Due to the fact that parties obtaining the initial menisci samples were also executing the final analysis of the histologic sections, a double-blinded study design was performed 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. Before dehydration, post-fixation in osmium tetroxide was done in increasing concentrations of ethanol. Next, the menisci sections were treated with propylene oxide and placed in progressive concentrations of epon. The most representative zone was chosen from five different 1-µm-thick toluidine blue-stained sections with the help of a light microscope (SMZ-10A, Nikon, Japan; 40× magnification). Ninety nanometer 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 transmission electron microscopy photographs were randomly taken.

Fibril collagen measurements and histologic classification

Four hundred collagen fibrils were recorded and measured in longitudinal and transversal sections from every meniscus. Based on recent studies [6, 7], the analyzed photographs were set at 19,000× magnification. All measurements were determined by one independent observer with the help of an electronic digital caliper (ProMax,

Fowler; USA Range 0–150 mm, resolution 0.02 mm) and then multiplied by 19,000 to get the corresponding measure in nanometers.

According to the published Collagen Meniscal Architecture scoring system [6], the collagen’s periodicity and degree of disruption, loss of banding, degree of collagen packing, fibril size variability, and its intrafibrillar edema were evaluated. On this scale, the meniscus scored from 0 to 7. Following the established criteria, they were classified by two pre-instructed independent observers and then averaged in grades ranging from a normal state (grade I 0–2 points) to severe disarray (grade III 5–7 points). The interclass reliability for these two observers was finally calculated.

Statistical analysis

Cell viability variables are presented as mean ± SD, median, 25th and 75th percentiles, maximum and minimum and were compared using the nonparametric paired Wilcoxon signed rank test. The meniscus’ ultrastructure data have been presented as mean ± SD for transversal and longitudinal variables. The one-way ANOVA with Tukey’s multiple comparison correction was used for comparisons. Interobserver agreement was analyzed using the interclass correlation coefficient (ICC). Statistical analysis was performed using SPSS 15 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). Statistical significance was set at 0.05.

Results

Gene expression measurements

Table 1 shows the descriptive and statistical data of each studied protein (type I collagen, type II collagen, and

Table 1 Cell viability assessed with genetic expression (gene expression unit) of three extracellular proteins of the meniscus

		Control group	FBS	ITS	<i>P</i> value ^a Cg versus FBS	<i>P</i> value ^a Cg versus ITS	<i>P</i> value ^a FBS versus ITS
AGG	Mean (SD)	1.4 (1.1)	1.3 (1.1)	1.3 (0.9)	n.s	n.s	n.s
	Med (P25–P75)	1.3 (0.4–1.9)	1.3 (0.2–2.4)	1.2 (0.4–2.0)			
	Min–Max	0.2–4.0	0.0–2.7	0.0–3.1			
Type I Col	Mean (SD)	3.3 (4.5)	4.8 (4.2)	1.2 (1.1)	n.s	n.s	0.036
	Med (P25–P75)	1.5 (0.6–5.6)	5.3 (0.4–8.2)	1.0 (0.7–1.3)			
	Min–Max	0.2–13.0	0.1–10.8	0.1–4.0			
Type II Col	Mean (SD)	2.1 (2.4)	0.7 (1.3)	0.2 (0.5)	n.s	0.012	n.s
	Med (P25–P75)	0.7 (0.2–3.8)	0.0 (0.0–0.9)	0.0 (0.0–0.2)			
	Min–Max	0.0–7.3	0.0–4.1	0.0–1.4			

AGG aggrecan, type I Col type I collagen, type II Col type II collagen in the three groups of the study; FBS meniscus cultured with 20% of fetal-bovinum-serum medium, ITS meniscus cultured with 1% of Insulin-Transferrin-Selenium medium

^a Nonparametric Wilcoxon signed rank test

Table 2 Median diameter in nanometers of the collagen fibers in longitudinal and transversal section observed in the different culture mediums

	Transversal	Longitudinal
Control group	14.4 ± 4.1	12.3 ± 3.8
ITS	14.6 ± 3.3	13.1 ± 3.8
FBS	15.3 ± 4.4	12.6 ± 3.3
<i>P</i> value ^a		
Control group versus ITS	n.s	0.005
Control group versus FBS	0.002	n.s
FBS versus ITS	0.025	n.s

FBS menisci cultured with 20% of fetal-bovinum-serum medium, ITS menisci cultured with 1% of Insulin-Transferrin-Selenium medium

^a *P* value from Tukey's multiple comparison correction

aggrecan) in the three groups: gene expressions in the control group, in the samples cultured with a supplement of fetal-bovinum-serum, and in the samples cultured with a supplement of Insulin-Transferrin-Selenium medium. As data obtained showed great variability with large standard deviations, comparisons were performed with medians and percentiles. No differences were observed in relation to the aggrecan gene expression comparing the three groups. Regarding the expression of type I collagen, a statistical difference ($P = 0.036$) was observed comparing Insulin-Transferrin-Selenium medium with fetal-bovinum-serum medium. No differences were detected when both mediums were compared with the control group. Regarding the type II collagen, a great decrease in the expression of this protein was observed in both mediums.

Fibril collagen size

Table 2 provides descriptive data regarding the size of the longitudinal and transversal sections of the collagen fibrils. Increases in the size of both sections in both culture mediums in comparison with the control group were observed. This increase has statistical significance in the Insulin-Transferrin-Selenium medium in the longitudinal sections ($P = 0.005$) and in the fetal-bovinum-serum medium in the transversal sections ($P = 0.002$), but in all cases, a tendency to an increase in the size in both sections was observed (Fig. 2).

Architectural degree and scoring

Following the Collagen Meniscal Architecture scoring system criteria, eight of ten samples were graded as I, the other two as II in the control group. In the fetal-bovinum-serum and Insulin-Transferrin-Selenium groups, seven of ten previously cultured menisci were classified as grade I and the remaining samples as II. Similarly, no differences

were observed with respect to the scoring aspect of the scale. The control group averaged 1.5 points ± 0.7 , the fetal-bovinum-serum group 1.7 ± 0.9 , and the Insulin-Transferrin-Selenium samples 1.9 ± 0.5 (ns). Interclass correlation between both observers was considered moderate with a single ICC 0.529 (95% IC 0.346–0.854).

Discussion

The main finding of this study was that the Insulin-Transferrin-Selenium-supplemented menisci showed a gene expression more similar to the control group than the fetal-bovinum-serum group and that the collagen meniscal net is not altered. This confirms our two hypotheses. However, type I collagen, the most important protein in the extracellular matrix [6], was significantly increased in the fetal-bovinum-serum group. It is not known whether this large amount of collagen production in the fetal-bovinum-serum group might lead to a fibrotic meniscus. Aggrecan is the most important proteoglycan in the extracellular matrix of the menisci. In the three studied groups, there were no differences in the aggrecan levels at 4 weeks. This is in contrast to previous studies performed with fetal serum [20, 23], in which the proteoglycan synthesis declined dramatically at 4 weeks, suggesting a recommendable window period from day 10 to day 14 for implantation of a viable meniscal allograft. In type II collagen, a protein found in low proportion in the extracellular matrix strongly decreased its expression in both the Insulin-Transferrin-Selenium and the fetal-bovinum-serum solutions. Type II collagen is mostly found in the inner part of the menisci [6]. However, the actual relevance of this protein for the extracellular matrix is not well known. The fetal-bovinum-serum-supplemented medium showed to have better induced type II collagen expression than the Insulin-Transferrin-Selenium-supplemented medium.

This is one of the first studies assessing the gene expression of the proteins after a period of culture. Verbruggen et al. [20] compared the cellular metabolism in human menisci cultured in a medium supplemented with 20% fetal calf serum and in a serum-free medium. They concluded that the menisci maintain their viable conditions up to 2 weeks with the fetal calf serum-supplemented medium. In longer periods of time, the levels of proteoglycan decrease considerably. To study the cell metabolism, they assessed the degree of sulphate that it is incorporated in the proteoglycan. Conversely, in the current study, fibroblast viability was assessed by evaluating the capacity to produce type I and II collagen and aggrecan. This method expresses the exact production of these proteins at a specific moment and therefore is a much more sensitive technique. This high sensitivity, the high cell and

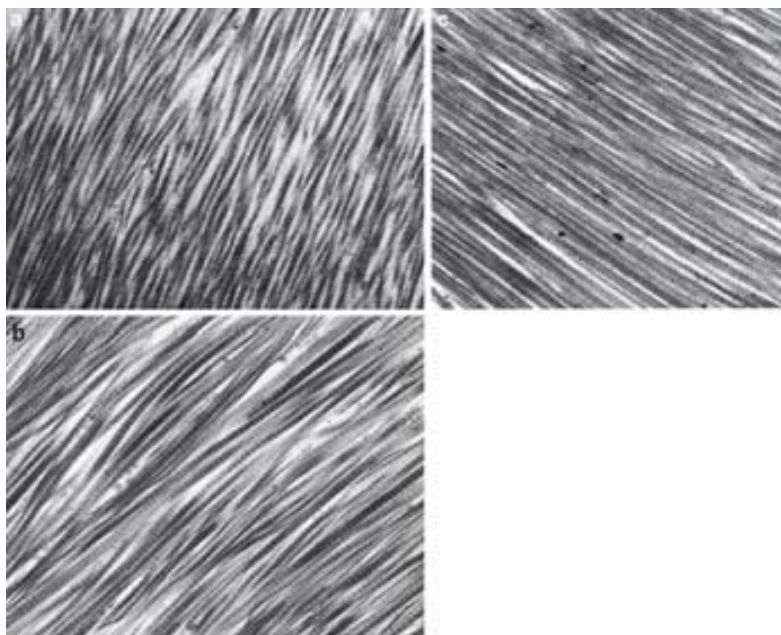


Fig. 2 Transmission electron microscopy photographs of a meniscus classified as grade I on the CMA scoring system. The cultured sections showed a slightly increase in the collagen fiber diameters.

a Control section. **b** Section cultured with 20% of fetal-bovinum-serum medium. **c** Meniscus cultured with 1% of Insulin-Transferrin-Selenium medium

protein distribution’s variability between menisci and even in different zones of each meniscus [6] and finally the fact that we did not assess the protein gene expression at 2 weeks as Verbruggen et al. did [20] limit precise comparisons between these investigations.

There are several studies describing the distribution of the different collagen types in the menisci [5, 6, 13, 15, 19]. Collagen proteins represent 70% of the dry weight of the meniscus. Type I collagen represents about 70% of the total collagen weight. Although there is no clear role for type II collagen, the specific location of this protein in the inner one-third of the meniscal tissue, possibly as a consequence of mechanical stimulation, might suggest a more important function in the net architecture than was initially thought. The low (almost absent) type II collagen gene expression at 4 weeks in both supplemented mediums in the current study might be interpreted as an important handicap regarding the ability to maintain a normal collagen net architecture.

The collagen net architecture was assessed both with the Collagen Meniscal Architecture score and by measuring the collagen fibers diameter in transversal and longitudinal sections of the menisci. Interobserver reliability calculated in this study was only moderate in contrast to a better

coefficient calculated in a previous study [12]. There were no differences in the three studied groups regarding the scoring and the sizing in both sections, suggesting a good preservation of the collagen net in both mediums. However, a slight increase in the fibers sizes in the fetal-bovinum-serum- and Insulin-Transferrin-Selenium-supplemented mediums in both sections was observed. This might be a logical consequence of the collagen fibers being embedded in an aqueous medium for 28 days. Consistent with other studies [20, 22], it seems the net collagen architecture is not ultrastructurally altered at 4 weeks.

Cryopreservation and deep-frozen are two different techniques that are widely used to preserve meniscal tissue. It seems that cryopreservation keeps the net collagen architecture intact and produces a variable amount of cell survival [12]. With regard to the deep-frozen technique, there are conflicting studies [8, 11]. The key factor for the ultimate functional success of meniscal transplantation is the ability of the cells that repopulate a meniscal allograft to synthesize extracellular matrix [25]. Cells functioning adequately will remodel and maintain the extracellular matrix and thus maintain the biomechanical properties of the meniscus. There are contradictory studies relative to the time necessary to effectively repopulate the graft.

Arnozky et al. [2] showed that this phenomenon is slow and might even be incomplete. They showed that the core of the meniscus remained acellular after 6 months from the transplantation of a deep-frozen meniscal autografts. In addition, Verdonk et al. [21] showed that donor DNA in the viable human meniscal allograft can be detected for as long as sixty-four months after transplantation. Although this donor DNA was found at the inner edge of the menisci, the region in where most biologic activity is retained, the aforementioned indicates that donor cells survive for a long period of time [21]. In contrast, Jackson et al. [14] suggested that host cells rapidly repopulate the transplanted meniscus and that there is no evidence that donor cells maintain the extracellular matrix of the meniscus on a long-term basis. Thus, no justification for using grafts with living cells was concluded. Long-term studies of meniscal transplantation survival using deep-frozen or cryopreserved menisci had not shown remarkable differences in comparison with viable transplanted menisci [9, 22–24]. In addition, when an allograft meniscus is being transplanted, the quality relative to cell and collagen components is unknown. However, many different variables inhomogeneously distributed in those studies make them non-comparable.

Fetal-bovinum-serum is a medium supplement widely used to preserve meniscal tissue in laboratory studies [20, 22, 23]. Its composition is not well known because it is produced from bovine serum and depends on the animal killed. This medium cannot be used when the menisci have to be transplanted to a human knee. In these cases, we need to obtain host serum to supplement the medium of the menisci. It is difficult to set up fresh menisci banks because there is only a two-week window to transplant the meniscus. In addition, the host patient must be determined in advance in order to obtain his/her serum. Conversely, the Insulin-Transferrin-Selenium has a well-known composition, and it is widely used to preserve other human tissues [7, 10, 26]. With the data obtained in this study, it seems the Insulin-Transferrin-Selenium might be used to maintain meniscal tissue instead of the host donor or bovine serum at least at 4 weeks from harvesting.

The main limitation to the present study is the great variability observed in each meniscus. This might be due to the fact that meniscal tissue was harvested in aged patients. Although the menisci were obtained in good condition, menisci in 70-year-old patients had already initiated a degenerative process. Even in the clinical setting, a high variability in the collagen and cell components of the allografts is expected. However, the same specimens were used as experimental and control groups to thereby minimize any possible bias. Another possible explanation for the great variability observed might be that cell viability

was assessed with gene expression instead of the total amount of protein synthesized during the 4 weeks of culture. Another limitation perceived was that although the fibril collagen diameters were measured with the help of a precise electronic caliper, this was done manually. It could have been solved with the help of image analysis software previously described [4].

The results of the study suggest that Insulin-Transferrin-Selenium might be used instead of fetal-bovinum-serum or autologous host serum in order to preserve meniscal tissue. It has been shown that collagen net architecture and protein metabolism of type I collagen and aggrecan are maintained at 4 weeks, regardless the practical absence of type II collagen. Hence, the Insulin-Transferrin-Selenium solution might be considered a good supplement to preserve meniscal tissue. Animal studies should be the next step in order to find out whether fresh menisci banks may be created using Insulin-Transferrin-Selenium as a medium supplement. This might extend the time between the harvesting of the meniscus and its placement in a host knee. Thus, viable meniscal transplantation would be logistically less complicated to be performed.

It is generally accepted that an intact collagen net architecture is a key factor for the graft to act as a proper scaffold. Currently, it is not possible to state that viable meniscal allografts have more clinical benefit than cryopreserved or deep-frozen allografts. However, a graft without cells maintaining the collagen ultrastructure might lead to temporary collagen net disarray due to the fact that repopulation occurs later on. Theoretically, this makes viable meniscal graft a step forward relative to other meniscal preservation techniques.

The clinical relevance of this study is that an Insulin-Transferrin-Selenium-supplemented medium might be used instead of fetal-bovinum-serum or an autologous host serum to preserve meniscal tissue, which precludes the necessity of obtaining host serum previously.

This might make viable meniscal transplantation less complicated logistically to perform.

Conclusion

The Insulin-Transferrin-Selenium-supplemented medium is at least as effective as the fetal-bovinum-serum-supplemented medium in preserving the net architecture of the meniscal tissue. The gene expression of the studied proteins was similar in the Insulin-Transferrin-Selenium group to that observed in the control group at 4 weeks. From a logical point of view, Insulin-Transferrin-Selenium might be a better alternative as a medium supplement for preserving meniscal tissue than fetal-bovinum-serum or host serum *in vivo*.

References

1. Arnoczky SP, Milachowski KA (1990) Meniscal allografts: where do we stand? In: Ewing JW (ed) Articular cartilage and knee joint function: basic science and arthroscopy. Raven, New York, pp 129–136
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. DeBeer P, Decorte R, Delvaux S, Bellemans J (2000) DNA analysis of a transplanted cryopreserved meniscal allograft. *Arthroscopy* 16:71–75
4. 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
5. Chevrier A, Nelea M, Hurtig MB, Hoemann CD, Buschmann MD (2009) Meniscus structure in human, sheep, and rabbit for animal models of meniscus repair. *J Orthop Res* 27:1197–1203
6. Cheung HS (1987) Distribution of type I, II, III and V in the pepsin solubilized collagens in bovine menisci. *Connect Tissue Res* 16:343–356
7. Chua KH, Aminuddin BS, Fuzina NH, Ruzzymah BHI (2005) Insulin- Transferrin- Selenium prevent human chondrocyte dedifferentiation and promote the formation of high quality tissue engineered human hyaline cartilage. *Eur Cells Mater* 9:58–67
8. 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
9. Flattar M, Dhollander A, Verdonk R, Almqvist FK, Verdonk P (2011) Twenty-six years of meniscal allograft transplantation: is it still experimental? A meta-analysis of 44 trials. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 19:147–157
10. García-Giralt N, Izquierdo R, Nogués X, Pérez-Olmedilla M, Benito P, Gómez-Ribelles JL, Checa MA, Suay J, Caceres E, Monllau JC (2009) A porous PCL scaffold promotes the human chondrocytes redifferentiation and hyaline-specific extracellular matrix protein synthesis. *J Biomed Mater Res A* 85:1082–1089
11. 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
12. Gelber PE, González G, Torres R, García Giralt N, Caceres E, Monllau JC (2009) Cryopreservation does not alter the ultrastructure of the meniscus. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 17:639–644
13. Gruber HE, Mauerhan D, Chow Y, Ingram JA, Norton HJ, Hanley EN Jr, Sun Y (2008) Three-dimensional culture of human meniscal cells: extracellular matrix and proteoglycan production. *BMC Biotechnol* 26:8–54
14. Jackson DW, Whelan J, Simon TM (1993) Cell survival after transplantation of fresh meniscal allografts. DNA probe analysis in a goat model. *Am J Sports Med* 21:540–550
15. Melrose J, Smith S, Calk M, Read R, Whitelock J (2005) Comparative spatial and temporal localisation of perlecan, aggrecan and type I, II and IV collagen in the ovine meniscus; an ageing study. *Histochem Cell Biol* 124:225–235
16. Milachowski KA, Kohn D, Wirth CJ (1989) Homologous meniscus transplantation. Experimental and clinical results. *Int Orthop* 13:1–13
17. Shibuya S (1999) Meniscus transplantation using a cryopreserved allograft. Histological and ultrastructural study of the transplanted meniscus. *J Orthop Sci* 4:135–141
18. Raht 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
19. Upton ML, Chen J, Setton LA (2006) Region-specific constitutive gene expression in the adult porcine meniscus. *J Orthop Res* 24:1562–1570
20. Verbruggen G, Verdonk R, Veys EM, Van Daele P, De Smet P, Van den Abbeele K, Claus B, Baeten D (1996) Human meniscal proteoglycan metabolism in long-term tissue culture. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 4:57–63
21. Verdonk P, Almqvist KF, Lootens T, Van Hoofstat D, Van Den Eeckhout E, Verbruggen G, Verdonk R (2002) DNA fingerprinting of fresh viable meniscal allografts transplanted in the human knee. *Osteoarthr Cartil* 10(Suppl A):S43–S44
22. Verdonk P, 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
23. Verdonk R, Khon D (1999) Harvest and conservation of meniscal allografts. *Scand J Med Sci Sports* 9:158–159
24. Wirth CJ, Peters G, Milachowski KA, Weismeier KG, Kohn K (2002) Long-term result of meniscal allograft transplantation. *Am J Sports Med* 30:174–181
25. Yamasaki T, Deie M, Shinomiva R, Yasunaga Y, Yanada S, Ochi M (2008) Transplantation of meniscos regenerated by tissue engineering with a scaffold derived from a rat meniscos and mesenchymal stromal cells derived from rat bone marrow. *Artif Organs* 32:519–524
26. Zhang L, Song H, Zhao X (2009) Optimum combination of insulin-transferrin-selenium and fetal bovine serum for culture of rabbit articular chondrocytes in three-dimensional alginate scaffolds. *Int J Cell Biol* 2009:747016



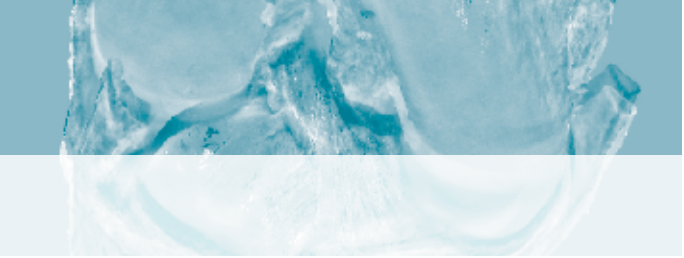
9. BIBLIOGRAFÍA

1. Fairbank TJ. Knee joint changes after meniscectomy. *J Bone Joint Surg Br.* 1948 Nov;30B(4):664-70.
2. Milachowski KA, Weismeier K, Wirth CJ. Homologous meniscus transplantation. Experimental and clinical results. *Int Orthop.* 1989;13(1):1-11.
3. González-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 Dec;26(12):1633-40.
4. Marcacci M, Zaffagnini S, Marcheggiani Muccioli GM, Grassi A, Bonanzinga T, Nitri M, Bondi A, Molinari M, Rimondi E. Meniscal allograft transplantation without bone plugs: a 3-year minimum follow-up study. *Am J Sports Med.* 2012 Feb;40(2):395-403.
5. Noyes FR, Barber-Westin SD, Rankin M. Meniscal transplantation in symptomatic patients less than fifty years old. *J Bone Joint Surg Am.* 2005 Sep;87 Suppl 1(Pt 2):149-65.
6. van der Wal RJ, Thomassen BJ, van Arkel ER. Long-term clinical outcome of open meniscal allograft transplantation. *Am J Sports Med.* 2009 Nov;37(11):2134-9.
7. Vundelinckx B, Bellemans J, Vanlauwe J. Arthroscopically assisted meniscal allograft transplantation in the knee: a medium-term subjective, clinical, and radiographical outcome evaluation. *Am J Sports Med.* 2010 Nov;38(11):2240-7.
8. Wirth CJ, von Lewinski G. Long-term results after combined medial meniscal allograft transplantation and anterior cruciate ligament reconstruction: minimum 8.5-year follow-up study. *Arthroscopy.* 2004 Sep;20(7):782-3.
9. Elattar M, Dhollander A, Verdonk R, Almqvist KF, Verdonk P. Twenty-six years of meniscal allograft transplantation: is it still experimental? A meta-analysis of 44 trials. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2011 Feb;19(2):147-57.
10. LaPrade RF, Wills NJ, Spiridonov SI, Perkinson S. A prospective outcomes study of meniscal allograft transplantation. *Am J Sports Med.* 2010 Sep;38(9):1804-12.

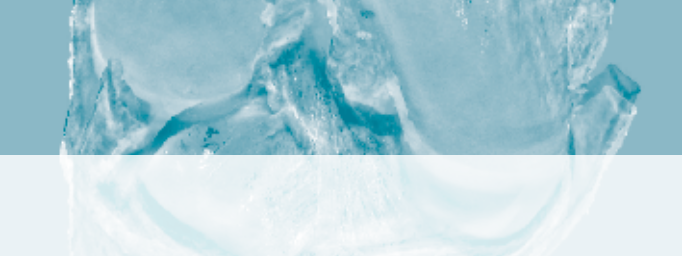
11. Lubowitz JH, Verdonk PC, Reid JB 3rd, Verdonk R. Meniscus allograft transplantation: a current concepts review. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2007 May;15(5):476-92.
12. Spang JT, Dang AB, Mazzocca A, Rincon L, Obopilwe E, Beynnon B, Arciero RA. The effect of medial meniscectomy and meniscal allograft transplantation on knee and anterior cruciate ligament biomechanics. *Arthroscopy.* 2010 Feb;26(2):192-201.
13. Szomor ZL, Martin TE, Bonar F, Murrell GA. The protective effects of meniscal transplantation on cartilage. An experimental study in sheep. *J Bone Joint Surg Am.* 2000 Jan;82(1):80-8.
14. Alhalki MM, Howell SM, Hull ML. How three methods for fixing a medial meniscal autograft affect tibial contact mechanics. *Am J Sports Med.* 1999 May-Jun;27(3):320-8.
15. Chen MI, Branch TP, Hutton WC. Is it important to secure the horns during lateral meniscal transplantation? A cadaveric study. *Arthroscopy.* 1996 Apr;12(2):174-81.
16. McDermott ID, Lie DT, Edwards A, Bull AM, Amis AA. The effects of lateral meniscal allograft transplantation techniques on tibio-femoral contact pressures. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2008 Jun;16(6):553-60.
17. Verdonk PC, Verstraete KL, Almqvist KF, De Cuyper K, Veys EM, Verbruggen G, Verdonk R. Meniscal allograft transplantation: long-term clinical results with radiological and magnetic resonance imaging correlations. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2006 Aug;14(8):694-706.
18. Stollsteimer GT, Shelton WR, Dukes A, Bomboy AL. Meniscal allograft transplantation: a 1- to 5-year follow-up of 22 patients. *Arthroscopy.* 2000 May-Jun;16(4):343-7.
19. 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):22-6.
20. Miller TT, Staron RB, Feldman F, Cepel E. Meniscal position on routine MR imaging of the knee. *Skeletal Radiol.* 1997 Jul;26(7):424-7.

- 
21. Wang Y, Wluka AE, Pelletier JP, Martel-Pelletier J, Abram F, Ding C, Cicuttini FM. Meniscal extrusion predicts increases in subchondral bone marrow lesions and bone cysts and expansion of subchondral bone in osteoarthritic knees. *Rheumatology (Oxford)*. 2010 May;49(5):997-1004.
 22. Wirth CJ, Peters G, Milachowski KA, Weismeier KG, Kohn D. Long-term results of meniscal allograft transplantation. *Am J Sports Med*. 2002 Mar-Apr;30(2):174-81.
 23. Fabbriani C, Lucania L, Milano G, Schiavone Panni A, Evangelisti M. Meniscal allografts: cryopreservation vs deep-frozen technique. An experimental study in goats. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 1997;5(2):124-34.
 24. 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 Apr;16(4):353-9.
 25. 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 Jun;17(6):639-44.
 26. Verdonk PC, 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):715-24.
 27. Verdonk R, Kohn D. Harvest and conservation of meniscal allografts. *Scand J Med Sci Sports*. 1999 Jun;9(3):158-9.
 28. Chen J, Iosifidis M, Zhu J, Tatarintsev I, Wang JH. Vanadate ingestion enhances the organization and collagen fibril diameters of rat healing medical collateral ligaments. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2006 Aug;14(8):750-5.
 29. Chua KH, Aminuddin BS, Fuzina NH, Ruszymah BH. Insulin-transferrin-selenium prevent human chondrocyte dedifferentiation and promote the formation of high quality tissue engineered human hyaline cartilage. *Eur Cell Mater*. 2005 Jun 17;9:58-67.
 30. Kisiday JD, Kurz B, DiMicco MA, Grodzinsky AJ. Evaluation of medium supplemented with insulin-transferrin-selenium for culture of primary bovine calf chondrocytes in three-dimensional hydrogel scaffolds. *Tissue Eng*. 2005 Jan-Feb;11(1-2):141-51.

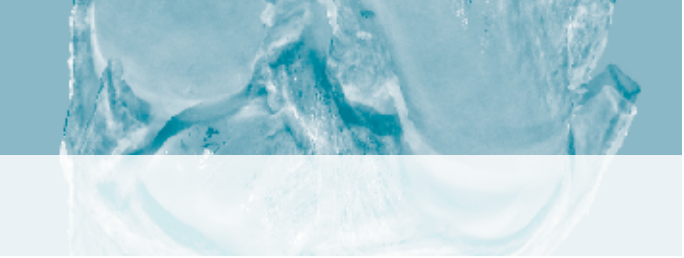
31. Zhang L, Song H, Zhao X. Optimum combination of insulin-transferrin-selenium and fetal bovine serum for culture of rabbit articular chondrocytes in three-dimensional alginate scaffolds. *Int J Cell Biol.* 2009;2009:747016.
32. Clark CR, Ogden JA. Development of the menisci of the human knee joint. Morphological changes and their potential role in childhood meniscal injury. *J Bone Joint Surg Am.* 1983 Apr;65(4):538-47.
33. Gardner E, O’Rahilly R. The early development of the knee joint in staged human embryos. *J Anat.* 1968 Jan;102(Pt 2):289-99.
34. Bullough PG, Munuera L, Murphy J, Weinstein AM. The strength of the menisci of the knee as it relates to their fine structure. *J Bone Joint Surg Br.* 1970 Aug;52(3):564-7.
35. Herwig J, Egner E, Buddecke E. Chemical changes of human knee joint menisci in various stages of degeneration. *Ann Rheum Dis.* 1984 Aug;43(4):635-40.
36. Ingman AM, Ghosh P, Taylor TK. Variation of collagenous and non-collagenous proteins of human knee joint menisci with age and degeneration. *Gerontologia.* 1974;20(4):212-23.
37. Cheung HS. Distribution of type I, II, III and V in the pepsin solubilized collagens in bovine menisci. *Connect Tissue Res.* 1987;16(4):343-56.
38. Eyre DR, Wu JJ. Collagen of fibrocartilage: a distinctive molecular phenotype in bovine meniscus. *FEBS Lett.* 1983 Jul 25;158(2):265-70.
39. Assimakopoulos AP, Katonis PG, Agapitos MV, Exarchou EI. The innervation of the human meniscus. *Clin Orthop Relat Res.* 1992 Feb;(275):232-6.
40. Elves MW. A study of the transplantation antigens on chondrocytes from articular cartilage. *J Bone Joint Surg Br.* 1974 Feb;56(1):178-85.
41. Arnoczky S, Milachowski K. Meniscal allografts: where do we stand? In: Ewing J, (ed). *Articular cartilage and the knee joint function: Basic science in arthroscopy.* Raven. New York; 1990 Feb. 5:129–136.
42. Zukor D, Cameron J, Brooks P. The fate of human meniscal allografts. In: Ewing J (ed). *Articular cartilage and knee joint function: Basic science and arthroscopy.* Raven. New York; 1990 Feb. 5:147.

- 
43. Wada Y. Meniscal transplantation using fresh and cryopreserved allografts, an experimental study in the genetically defined rat. *Nihon Seikeigeka Gakkai Zasshi*. 1993 Jul;67(7):677-83.
 44. Rijk PC, Van Noorden CJ. Structural analysis of meniscal allografts after immediate and delayed transplantation in rabbits. *Arthroscopy*. 2002 Nov-Dec;18(9):995-1001.
 45. McDermott ID, Sharifi F, Bull AM, Gupte CM, Thomas RW, Amis AA. An anatomical study of meniscal allograft sizing. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2004 Mar;12(2):130-5.
 46. Young RB. The external semilunar cartilage as a complete disc. In: Cleland J, Macke JY, Young RB (ed). *Memoirs and memoranda in anatomy*. Williams and Norgate. London;1889.
 47. Dye SF. Functional morphologic features of the human knee: an evolutionary perspective. *Clin Orthop Relat Res*. 2003 May;(410):19-24.
 48. Watanabe M, Takeda S, Ikeuchi H. *Atlas of arthroscopy*. Igaku-Shoin, Tokyo; 1986:1978-88.
 49. Tardieu C. Evolution of the knee menisci in primates. In: Else J, Lee J (eds) *Primate evolution*. Cambridge University Press, Cambridge 1986:183-190.
 50. Tardieu C. The knee joint in three hominoid primates. Evolutionary implications. In: Taub DM, King FA (eds). *Current perspectives in primate biology*. Van Nostrand Reinhold, New York;1986:182-192.
 51. Kohn D, Moreno B. Meniscus insertion anatomy as a basis for meniscus replacement: a morphological cadaveric study. *Arthroscopy*. 1995 Feb;11(1):96-103.
 52. Radoievitch F. Les ligaments des menisques interarticulaires du genou. *Ann Anat Pathol* 1931;8:400.
 53. Sommerlath K, Gillquist J. The effect of a meniscal prosthesis on knee biomechanics and cartilage. An experimental study in rabbits. *Am J Sports Med*. 1992 Jan-Feb;20(1):73-81.
 54. Nelson EW, LaPrade RF. The anterior intermeniscal ligament of the knee. An anatomic study. *Am J Sports Med*. 2000 Jan-Feb;28(1):74-6.

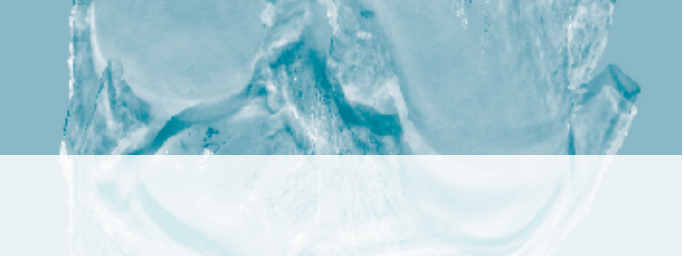
55. Sintzoff SA Jr, Stallenberg B, Gillard I, Gevenois PA, Matos C, Struyven J. Transverse geniculate ligament of the knee: appearance and frequency on plain radiographs. *Br J Radiol.* 1992 Sep;65(777):766-8.
56. Dickhaut SC, DeLee JC. The discoid lateral-meniscus syndrome. *J Bone Joint Surg Am.* 1982 Sep;64(7):1068-73.
57. Ross JA, Tough IC, English TA. Congenital discoid cartilage; report of a case of discoid medial cartilage, with an embryological note. *J Bone Joint Surg Br.* 1958 May;40-B(2):262-7.
58. Kaplan EB. Discoid lateral meniscus of the knee joint; nature, mechanism, and operative treatment. *J Bone Joint Surg Am.* 1957 Jan;39-A(1):77-87.
59. Nathan PA, Cole SC. Discoid meniscus. A clinical and pathologic study. *Clin Orthop Relat Res.* 1969 May-Jun;64:107-13.
60. Smillie IS. The congenital discoid meniscus. *J Bone Joint Surg Br.* 1948 Nov;30B(4):671-82.
61. Monllau JC, León A, Cugat R, Ballester J. Ring-shaped lateral meniscus. *Arthroscopy.* 1998 Jul-Aug;14(5):502-4.
62. Arnoczky SP, Warren RF. Microvasculature of the human meniscus. *Am J Sports Med.* 1982 Mar-Apr;10(2):90-5.
63. Soldado F, Reina F, Yuguero M, Rodríguez-Baeza A. Clinical anatomy of the arterial supply of the human patellar ligament. *Surg Radiol Anat.* 2002 Aug-Sep;24(3-4):177-82.
64. Day B, Mackenzie WG, Shim SS, Leung G. The vascular and nerve supply of the human meniscus. *Arthroscopy.* 1985;1(1):58-62.
65. Benedetto KP, Glötzer W, Künzel KH, Gaber O. The vascularization of the menisci. Morphological basis for the repair. *Acta Anat (Basel).* 1985;124(1-2):88-92.
66. Petersen W, Tillmann B. Structure and vascularization of the knee joint menisci. *Z Orthop Ihre Grenzgeb.* 1999 Jan-Feb;137(1):31-7.
67. Gelber P, Reina F, Cáceres E, Monllau J. Meniscos de la rodilla. Relaciones entre anatomía y función mecánica. *Cuadernos de Artroscopia.* 2007;5;30:8-14.

- 
68. Kurosawa H, Fukubayashi T, Nakajima H. Load-bearing mode of the knee joint: physical behavior of the knee joint with or without menisci. *Clin Orthop Relat Res.* 1980 Jun;(149):283-90.
 69. King D. The healing of semilunar cartilages. 1936. *Clin Orthop Relat Res.* 1990 Mar;(252):4-7.
 70. Vedi V, Williams A, Tennant SJ, Spouse E, Hunt DM, Gedroyc WM. Meniscal movement. An in-vivo study using dynamic MRI. *J Bone Joint Surg Br.* 1999 Jan;81(1):37-41.
 71. Gebhardt K. *Der Bandschaden des Kniegelenks.* Leipzig. Johann Ambrosius Barth; 1933.
 72. Loch RC, Gross AE, Langer F. Late osteochondral allograft resurfacing for tibial plateau fractures. *J Bone Joint Surg Am.* 1984 Mar;66(3):328-35.
 73. Lexer E (1908) Substitute of whole or half-joints from freshly amputated extremities by free plastic operation. *Surg Gynecol Obstet* 1908;6:601-607
 74. Wirth C, Kohn D. Meniscal transplantation and replacement. In: Fu F (ed). *Knee surgery.* Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore 1994;631-41.
 75. Lee BS, Kim JM, Sohn DW, Bin SI. Review of Meniscal Allograft Transplantation Focusing on Long-term Results and Evaluation Methods. *Knee Surg Relat Res.* 2013 Mar;25(1):1-6..
 76. Messner K. The concept of a permanent synthetic meniscus prosthesis: a critical discussion after 5 years of experimental investigations using Dacron and Teflon implants. *Biomaterials.* 1994 Mar;15(4):243-50.
 77. de Groot JH, de Vrijer R, Pennings AJ, Klompmaker J, Veth RP, Jansen HW. Use of porous polyurethanes for meniscal reconstruction and meniscal prostheses. *Biomaterials.* 1996 Jan;17(2):163-73.
 78. Kohn D, Rudert M, Wirth CJ, Plitz W, Reiss G, Maschek H. Medial meniscus replacement by a fat pad autograft. An experimental study in sheep. *Int Orthop.* 1997;21(4):232-8.
 79. Kohn D, Wirth CJ, Reiss G, Plitz W, Maschek H, Erhardt W, Wülker N. Medial meniscus replacement by a tendon autograft. Experiments in sheep. *J Bone Joint Surg Br.* 1992 Nov;74(6):910-7.

80. Sommerlath K, Gillquist J. The effects of an artificial meniscus substitute in a knee joint with a resected anterior cruciate ligament. An experimental study in rabbits. *Clin Orthop Relat Res.* 1993 Apr;(289):276-84.
81. Tienen TG, Heijkants RG, de Groot JH, Pennings AJ, Schouten AJ, Veth RP, Buma P. Replacement of the knee meniscus by a porous polymer implant: a study in dogs. *Am J Sports Med.* 2006 Jan;34(1):64-71.
82. Monllau JC, Gelber PE, Abat F, Pelfort X, Abad R, Hinarejos P, Tey M. Outcome after partial medial meniscus substitution with the collagen meniscal implant at a minimum of 10 years' follow-up. *Arthroscopy.* 2011 Jul;27(7):933-43.
83. Arnoczky SP, Warren RF, McDevitt CA. Meniscal replacement using a cryopreserved allograft. An experimental study in the dog. *Clin Orthop Relat Res.* 1990 Mar;(252):121-8.
84. Mikic ZD, Brankov MZ, Tubic MV, Lazetic AB. Allograft meniscus transplantation in the dog. *Acta Orthop Scand.* 1993 Jun;64(3):329-32.
85. Elliott DM, Jones R 3rd, 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):109-18.
86. Mora G, Alvarez E, Ripalda P, Forriol F. Articular cartilage degeneration after frozen meniscus and Achilles tendon allograft transplantation: experimental study in sheep. *Arthroscopy.* 2003 Oct;19(8):833-41.
87. Dienst M, Greis PE, Ellis BJ, Bachus KN, Burks RT. Effect of lateral meniscal allograft sizing on contact mechanics of the lateral tibial plateau: an experimental study in human cadaveric knee joints. *Am J Sports Med.* 2007 Jan;35(1):34-42.
88. Shaffer B, Kennedy S, Klimkiewicz J, Yao L. Preoperative sizing of meniscal allografts in meniscus transplantation. *Am J Sports Med.* 2000 Jul-Aug;28(4):524-33.
89. Haut TL, Hull ML, Howell SM. Use of roentgenography and magnetic resonance imaging to predict meniscal geometry determined with a three-dimensional coordinate digitizing system. *J Orthop Res.* 2000 Mar;18(2):228-37.
90. Huang A, Hull ML, Howell SM, Haut Donahue T. Identification of cross-sectional parameters of lateral meniscal allografts that predict tibial contact pressure in human cadaveric knees. *J Biomech Eng.* 2002 Oct;124(5):481-9.

- 
91. Pollard ME, Kang Q, Berg EE. Radiographic sizing for meniscal transplantation. *Arthroscopy*. 1995 Dec;11(6):684-7.
 92. Prodromos CC, Joyce BT, Keller BL, Murphy BJ, Shi K. Magnetic resonance imaging measurement of the contralateral normal meniscus is a more accurate method of determining meniscal allograft size than radiographic measurement of the recipient tibial plateau. *Arthroscopy*. 2007 Nov;23(11):1174-1179.e1.
 93. Urban WP Jr, Nyland J, Caborn DN, Johnson DL. The radiographic position of medial and lateral meniscal horns as a basis for meniscal reconstruction. *Arthroscopy*. 1999 Mar;15(2):147-54.
 94. Yahia L, Zukor D. Irradiated meniscal allotransplants of rabbits: study of the mechanical properties at six months postoperation. *Acta Orthop Belg*. 1994;60(2):210-5.
 95. Noyes FR, Barber-Westin SD. Meniscus transplantation: indications, techniques, clinical outcomes. *Instr Course Lect*. 2005;54:341-53.
 96. 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.
 97. 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 Sep-Oct;14(5):376-9.
 98. Wisnewski PJ, Powers DL, Kennedy JM. Glutaraldehyde-cross-linked meniscal allografts: mechanical properties. *J Invest Surg*. 1988;1(4):259-66.
 99. Verdonk R. Alternative treatments for meniscal injuries. *J Bone Joint Surg Br*. 1997 Sep;79(5):866-73.
 100. Kohn D. Autograft meniscus replacement: experimental and clinical results. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 1993;1(2):123-5.
 101. Sekaran SV, Hull ML, Howell SM. Nonanatomic location of the posterior horn of a medial meniscal autograft implanted in a cadaveric knee adversely affects the pressure distribution on the tibial plateau. *Am J Sports Med*. 2002 Jan-Feb;30(1):74-82.

- 102.** Lazović D, Wirth CJ, Sieg A, Gossé F, Maschek HG. Effect of surgical technique on meniscus transplants. A histological, animal experiment study. *Unfallchirurg*. 1997 Jul;100(7):541-6.
- 103.** 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 May;36(5):841-50.
- 104.** 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):239-46.
- 105.** Edwards DJ, Whittle SL, Nissen MJ, Cohen B, Oakeshott RD, Keene GC. Radiographic changes in the knee after meniscal transplantation. An experimental study in a sheep model. *Am J Sports Med*. 1996 Mar-Apr;24(2):222-6.
- 106.** Gale DR, Chaisson CE, Totterman SM, Schwartz RK, Gale ME, Felson D. Meniscal subluxation: association with osteoarthritis and joint space narrowing. *Osteoarthritis Cartilage*. 1999 Nov;7(6):526-32.
- 107.** Adams JG, McAlindon T, Dimasi M, Carey J, Eustace S. Contribution of meniscal extrusion and cartilage loss to joint space narrowing in osteoarthritis. *Clin Radiol*. 1999 Aug;54(8):502-6.
- 108.** Costa CR, Morrison WB, Carrino JA. Medial meniscus extrusion on knee MRI: is extent associated with severity of degeneration or type of tear? *AJR Am J Roentgenol*. 2004 Jul;183(1):17-23.
- 109.** Ha JK, Shim JC, Kim DW, Lee YS, Ra HJ, Kim JG. Relationship between meniscal extrusion and various clinical findings after meniscus allograft transplantation. *Am J Sports Med*. 2010 Dec;38(12):2448-55.
- 110.** van Arkel ER, Goei R, de Ploeg I, de Boer HH. Meniscal allografts: evaluation with magnetic resonance imaging and correlation with arthroscopy. *Arthroscopy*. 2000 Jul-Aug;16(5):517-21.
- 111.** Puig L, 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 Apr;14(4):394-8.

- 
- 112.** Sharma L, Eckstein F, Song J, Guermazi A, Prasad P, Kapoor D, Cahue S, Marshall M, Hudelmaier M, Dunlop D. Relationship of meniscal damage, meniscal extrusion, malalignment, and joint laxity to subsequent cartilage loss in osteoarthritic knees. *Arthritis Rheum.* 2008 Jun;58(6):1716-26.
- 113.** Hergan D, Thut D, Sherman O, Day MS. Meniscal allograft transplantation. *Arthroscopy.* 2011 Jan;27(1):101-12.
- 114.** Matava MJ. Meniscal allograft transplantation: a systematic review. *Clin Orthop Relat Res.* 2007 Feb;455:142-57.
- 115.** Bae JH, Lim HC, Kim HJ, Kim TS, Yang JH, Yoon JR. Arthroscopic treatment of acute septic arthritis after meniscal allograft transplantation. *Orthopedics.* 2010 Aug 11;33(8).
- 116.** Tengrootenhuysen M, Meermans G, Pittoors K, van Riet R, Victor J. Long-term outcome after meniscal repair. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2011 Feb;19(2):236-41.
- 117.** van Arkel ER, de Boer HH. Survival analysis of human meniscal transplantations. *J Bone Joint Surg Br.* 2002 Mar;84(2):227-31.
- 118.** Buckland-Wright. Radiographic assessment of osteoarthritis: comparison between existing methodologies. *Osteoarthritis Cartilage.* 1999 Jul;7(4):430-3.
- 119.** Elliott DM, Jones R 3rd, 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):109-18.
- 120.** Yoon JR, Kim TS, Lee YM, Jang HW, Kim YC, Yang JH. Transpatellar approach in lateral meniscal allograft transplantation using the keyhole method: can we prevent graft extrusion? *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2011 Feb;19(2):214-7.
- 121.** Jung YH, Choi NH, Victoroff BN. Arthroscopic stabilization of the lateral capsule of the knee in meniscal transplantation. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2011 Feb;19(2):189-91.
- 122.** Ha JK, Sung JH, Shim JC, Seo JG, Kim JG. Medial meniscus allograft transplantation using a modified bone plug technique: clinical, radiologic, and arthroscopic results. *Arthroscopy.* 2011 Jul;27(7):944-50.

123. 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 May;11(3):173-82.
124. Hommen JP, Applegate GR, Del Pizzo W. Meniscus allograft transplantation: ten-year results of cryopreserved allografts. *Arthroscopy.* 2007 Apr;23(4):388-93.
125. Alentorn-Geli E, Seijas Vázquez R, García Balletbó M, Alvarez Díaz P, Steinbacher G, Cuscó Segarra X, Rius Vilarrubia M, Cugat Bertomeu R. Arthroscopic meniscal allograft transplantation without bone plugs. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2011;19:174-182
126. Paletta GA Jr, 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. *Am J Sports Med.* 1997 Sep-Oct;25(5):692-8.
127. Choi CJ, Choi YJ, Lee JJ, Choi CH. Magnetic resonance imaging evidence of meniscal extrusion in medial meniscus posterior root tear. *Arthroscopy.* 2010 Dec;26(12):1602-6.
128. Ha JK, Shim JC, Kim DW, Lee YS, Ra HJ, Kim JG. Relationship between meniscal extrusion and various clinical findings after meniscus allograft transplantation. *Am J Sports Med.* 2010 Dec;38(12):2448-55.
129. Lee DH, Kim SB, Kim TH, Cha EJ, Bin SI. Midterm outcomes after meniscal allograft transplantation: comparison of cases with extrusion versus without extrusion. *Am J Sports Med.* 2010 Feb;38(2):247-54.
130. Verdonk P, Depaeppe Y, Desmyter S, De Muynck M, Almqvist KF, Verstraete K, Verdonk R. Normal and transplanted lateral knee menisci: evaluation of extrusion using magnetic resonance imaging and ultrasound. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2004 Sep;12(5):411-9.
131. 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 Oct;24(10):1115-21.
132. Breitenseher MJ, Trattng S, Dobrocky I, Kukla C, Nehrer S, Steiner E, Imhof H. MR imaging of meniscal subluxation in the knee. *Acta Radiol.* 1997 Sep;38(5):876-9.

- 
- 133.** Verbruggen G, Verdonk R, Veys EM, Van Daele P, De Smet P, Van den Abbeele K, Claus B, Baeten D. Human meniscal proteoglycan metabolism in long-term tissue culture. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 1996;4(1):57-63.
- 134.** Kohn D, Verdonk R, Aagaard H, Seil R, Dienst M. Meniscal substitutes, animal experience. *Scand J Med Sci Sports.* 1999 Jun;9(3):141-5.
- 135.** Chevrier A, Nelea M, Hurtig MB, Hoemann CD, Buschmann MD. Meniscus structure in human, sheep, and rabbit for animal models of meniscus repair. *J Orthop Res.* 2009 Sep;27(9):1197-203.
- 136.** Gruber HE, Mauerhan D, Chow Y, Ingram JA, Norton HJ, Hanley EN Jr, Sun Y. Three-dimensional culture of human meniscal cells: extracellular matrix and proteoglycan production. *BMC Biotechnol.* 2008 Jun 26;8:54.
- 137.** Melrose J, Smith S, Cake M, Read R, Whitelock J. Comparative spatial and temporal localisation of perlecan, aggrecan and type I, II and IV collagen in the ovine meniscus: an ageing study. *Histochem Cell Biol.* 2005 Sep;124(3-4):225-35.
- 138.** Upton ML, Chen J, Setton LA. Region-specific constitutive gene expression in the adult porcine meniscus. *J Orthop Res.* 2006 Jul;24(7):1562-70.
- 139.** Yamasaki T, Deie M, Shinomiya R, Yasunaga Y, Yanada S, Ochi M. Transplantation of meniscus regenerated by tissue engineering with a scaffold derived from a rat meniscus and mesenchymal stromal cells derived from rat bone marrow. *Artif Organs.* 2008 Jul;32(7):519-24.
- 140.** Arnoczky SP, DiCarlo EF, O'Brien SJ, Warren RF. Cellular repopulation of deep-frozen meniscal autografts: an experimental study in the dog. *Arthroscopy.* 1992;8(4):428-36.
- 141.** Verdonk P, Almqvist KF, Lootens T, Van Hoofstat D, Van Den Eeckhout E, Verbruggen G, Verdonk R. DNA finger-printing of fresh viable meniscal allografts transplanted in the human knee. *Osteoarthr Cartil* 2002;10(Suppl A):S43-S44.
- 142.** Jackson DW, Whelan J, Simon TM. Cell survival after transplantation of fresh meniscal allografts. DNA probe analysis in a goat model. *Am J Sports Med.* 1993 Jul-Aug;21(4):540-50.

143. Garcia-Giralt N, Izquierdo R, Nogués X, Perez-Olmedilla M, Benito P, Gómez-Ribelles JL, Checa MA, Suay J, Caceres E, Monllau JC. A porous PCL scaffold promotes the human chondrocytes redifferentiation and hyaline-specific extracellular matrix protein synthesis. *J Biomed Mater Res A*. 2008 Jun 15;85(4):1082-9.
144. Boxheimer L, Lutz AM, Treiber K, Goepfert K, Crook DW, Marincek B, Weishaupt D. MR imaging of the knee: position related changes of the menisci in asymptomatic volunteers. *Invest Radiol*. 2004 May;39(5):254-63.
145. Magee T. MR findings of meniscal extrusion correlated with arthroscopy. *J Magn Reson Imaging*. 2008 Aug;28(2):466-70.

10. APÉNDICES

1. Escala de actividad de Tegner

TEGNER ACTIVITY SCORE

NOMBRE

Nº HISTORIA

FECHA

/ /201

Indique el número que mejor describe su MÁXIMO nivel de actividad física (SOLO UNO).

ANTES DE LESION

ACTUALMENTE

- 10** Deporte de competición: Ej. Fútbol/Rugby (1º división)
- 9** Deporte de competición: Fútbol/Rugby (no 1º división), Básquet, Artes marciales, Gimnasta
- 8** Deporte de competición: Paddle/Squash, Atletismo con saltos, Esquí tradicional
- 7** Deporte de competición: Tenis, Corredor, Automovilismo/Motociclismo
ó Deportista recreacional: Fútbol, Rugby, Baloncesto, Squash, Atletismo con saltos
- 6** Deporte recreacional: Tenis, Balonmano, Esquí, Corredor 5 o más veces por semana
- 5** Trabajo pesado (ej. construcción, carpintería)
ó Deporte de competición: Ciclismo, Esquí de fondo
ó Deporte recreacional: Atletismo de montaña 2 o más veces por semana
- 4** Trabajo intermedio (ej., limpieza, transportista, reponedor)
ó Deportes recreacionales: Ciclismo, Esquí de fondo, Atletismo 2 o más veces por semana
- 3** Trabajo liviano (ej. comercial, sanidad)
ó Natación competitiva o recreacional
ó Caminar en montaña
- 2** Trabajo liviano
ó Caminar en suelo irregular pero no en montaña
- 1** Trabajo sedentario
ó Caminar en suelo liso
- 0** Nula actividad física por sus problemas de rodilla

2. Escala funcional de Lysholm

ReGen Biologics, Inc.
www.regenbio.com

DataFax #050 Plate #080 Visit #040

1 AÑO	Autoevaluación del paciente 2 de 4	Número de paciente <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
		Iniciales del paciente <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>

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.

- Cojera**
 - Ninguna
 - Ligera o periódica
 - Severa y constante
- Utilización de muletas**
 - Ninguna
 - Bastón o muletas
 - Imposible soportar el peso
- 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
- 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
- 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

July 06, 2006 ReGen Biologics Inc. No.21.6001 Page 30 of 49

3. Escala visual analógica

Se utilizó un regla espacialmente diseñado para que el paciente indique el grado de dolor percibido (Figura 33).



Fig 33.

Regla utilizada para valorar el grado de dolor percibido por el paciente según la escala visual analógica (EVA).

UAB

Universitat Autònoma
de Barcelona

Departamento de Cirugía
Facultad de Medicina
Universitat Autònoma de Barcelona