

Cicatrización del tendón rotuliano tras la extracción de su tercio central. Estudio experimental en el conejo

J. C. Monllau García^a, P. Hinarejos Gómez^a, X. Pelfort López^a, N. Baixeras González^b, F. J. Gil Mur^c y J. Ballester Soleda^a

^aServicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología. ^bDepartamento de Anatomía Patológica. Hospital del Mar. ^cUniversitat Autònoma de Barcelona (UAB). ^dDepartamento de Ciencia de los Materiales e Ingeniería Metalúrgica. Universitat Politècnica de Catalunya (UPC). Barcelona.

Objetivo. Estudiar la evolución biomecánica e histológica a 3 y 12 meses del proceso de cicatrización de defectos creados quirúrgicamente en el tendón rotuliano del conejo.

Diseño experimental. Se utilizaron 16 conejos de raza albina New Zealand, con un peso de entre 4.000 y 4.500 g. Se extrajo quirúrgicamente el tercio central del tendón de la rodilla derecha; la izquierda sirvió como control. Ocho animales fueron sacrificados aleatoriamente a los 3 meses y otros 8 a los 12 meses. Tras el sacrificio se extrajeron las unidades rótula-tendón rotuliano-tuberosidad anterior de la tibia y se montaron en una máquina Instron® para realizar ensayos de tracción hasta la rotura del espécimen. Dos animales de cada grupo escogidos al azar fueron destinados para estudio histológico.

Resultados. A los 3 meses la fuerza máxima de los tendones operados fue el 71% del control ($p < 0,008$). No se observaron diferencias significativas en la rigidez y módulo de Young. A los 12 meses la fuerza máxima de los tendones operados fue el 85,5% del control ($p < 0,001$), la rigidez del 76% ($p < 0,015$) y el módulo de Young del 92,8% ($p < 0,043$). La histología mostró una maduración y organización progresiva del neotendón, aunque al año de evolución todavía se encontraba muy alterada.

Conclusiones. Los resultados sugieren que la extracción de un tercio del tendón rotuliano en el conejo provoca alteraciones de las propiedades estructurales y biomecánicas que persisten al año de la cirugía.

Palabras clave: tendón rotuliano, ligamento cruzado, rodilla, estudio experimental.

Correspondencia:

J. C. Monllau García.
Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología.
Hospital Universitari del Mar.
Passeig Marítim, 25-29.
08003 Barcelona.
Correo electrónico: jmonllau@imas.imim.es

Recibido: enero de 2002.

Aceptado: julio de 2002.

Healing of the patellar tendon after removing the middle third. Experimental study in rabbits

Objective. To study the biomechanical and histologic evolution at 3 and 12 months in the process of healing surgical defects in the patellar tendon of rabbits.

Experimental design. Sixteen white New Zealand rabbits weighing 4,000 to 4,500 g were used. The central third of the right patellar tendon was removed surgically and the left tendon was kept intact as a control. Eight randomly selected animals were killed at 3 months and 8 animals were killed at 12 months. After death, the patella, patellofemoral tendon and anterior tibial tuberosity were removed as a unit and mounted on an Instron® machine for resistance assays until the specimen ruptured. Two animals chosen randomly from each group were used for histologic study.

Results. At three months the maximum resistance of the operated tendons was 71% of control values ($p < 0.008$). No significant differences were observed in the rigidity and Young module. At 12 months, the maximum resistance of the operated tendons was 85.5% of control values ($p < 0.001$), the rigidity was 76% ($p < 0.015$), and the Young module was 92.8% ($p < 0.043$). The histologic study showed maturation and progressive organization of the neotendon, but it was still disorganized at one year of follow-up.

Conclusions. The results suggest that the removal of one-third of the patellar tendon in rabbits causes structural and biomechanical disorganization that persists one year after surgery.

Key words: patellar tendon, anterior cruciate ligament, knee, experimental research.

El tercio central del tendón rotuliano (TR) es probablemente el injerto más utilizado en nuestros días para reconstruir el ligamento cruzado anterior (LCA) de la rodilla, debido a: su solidez mecánica¹⁻³, la posibilidad de una fijación

primaria estable^{4,5}, la integración posterior mediante fusión hueso-hueso^{6,7} y la capacidad de regeneración del defecto creado en el tendón^{1,7,8-12}. Sin embargo, en los últimos años una serie de complicaciones de las reconstrucciones del LCA que utilizan el TR se han atribuido directamente a la morbilidad que provoca la toma del injerto. Así, se han constatado fracturas de rótula¹³, crepitaciones y dolores femoropatetales^{6,14} y roturas^{13,15-17}, tendinitis^{5,7} y alteraciones postoperatorias de la longitud del TR^{6,18}.

Se ha publicado que el defecto creado en el TR se regenera, o cicatriza, por formación de un tejido colágeno que madura progresivamente hasta ser histológicamente idéntico al tendón original a los 2 años de la extracción^{1,8,9,12}. Sin embargo, recientes estudios sugieren que el proceso de maduración de la cicatriz tendinosa evoluciona de forma más lenta que lo previamente estimado, lo que podría contribuir a explicar algunas de las complicaciones y fracasos mecánicos observados en el TR tras la extracción de un tercio de su masa^{3,17-20}. El propósito de este trabajo es estudiar la evolución biomecánica e histológica de la cicatrización de defectos creados quirúrgicamente en el TR del conejo.

MATERIAL Y MÉTODO

Se utilizaron 16 conejos (*Oryctolagus cuniculus*) de raza albina de Nueva Zelanda, esqueléticamente maduros, con un peso entre 4.000 y 4.500 g. Se escogió el conejo como modelo debido a su bajo coste, facilidad de manejo y buena tolerancia a la cirugía¹⁸. También se tuvo en cuenta la analogía de su aparato extensor comparado con el humano²¹. En todo momento se siguieron las recomendaciones del Comité Ético local de investigación animal. Los animales fueron anestesiados con una mezcla intramuscular de ketamina (0,1 mg/kg de peso) y xylazina (5 mg/kg de peso). Con técnica rigurosamente estéril se realizó una incisión parapatelar de 3 cm, se disecó el paratenon y se extrajo el tercio central del TR sin incluir la parte ósea correspondiente a rótula y tuberosidad tibial, puesto que el objetivo de nuestro experimento era averiguar únicamente las propiedades biomecánicas del tendón regenerado.

Seguidamente se procedió a suturar el paratenon con puntos de Vicryl 4-0, dejando sin reparar el defecto creado en el tendón. La piel se cerró con puntos sueltos de Vicryl 3/0. En el postoperatorio inmediato se administró una sola dosis intramuscular de 200 mg de dipirone magnésica. Los animales fueron estabulados en jaulas de laboratorio estándar, dentro de las cuales gozaron de libre movilidad. Se realizaron reconocimientos diarios para comprobar el estado clínico y la evolución de la herida quirúrgica. El sacrificio se realizó a las 12 semanas en 8 conejos escogidos al azar, y al año en otros 8. Inmediatamente después se extrajo el sistema rótula—TR—tuberosidad anterior de la tibia (probeta) de la rodilla operada y de la contralateral, que sirvió co-

mo control, y se congeló a -20°C hasta el momento del estudio, puesto que se ha demostrado que este método de conservación no altera las propiedades mecánicas del TR⁴.

Estudio biomecánico

Se realizó un estudio biomecánico en 6 especímenes en cada intervalo de tiempo. Para ello se sumergieron en suero salino a 37°C hasta que estuvieron totalmente descongelados. Inmediatamente después se determinó el área de sección transversal de cada TR mediante la fórmula de cálculo de una elipse [$\pi/4$ (anchura $\times$ grosor)]^{18,22}. Con objeto de minimizar errores se realizaron 10 mediciones de la anchura y grosor del TR en toda su longitud, con un calibre de precisión de 0,5 mm. El estudio biomecánico consistió en ensayos de tracción en dirección longitudinal, hasta producir la rotura de la probeta.

En cada ensayo se determinaron la *fuerza máxima* de rotura, la *rigidez* y el *módulo de elasticidad* o de *Young*. Las pruebas se realizaron con una máquina universal para ensayo de materiales Instron® 4507 (Canton, Massachusetts) controlada por ordenador, en la que se ajustó la velocidad de desplazamiento de las mordazas a 3 mm/minuto y la adquisición de datos a 10 puntos/segundo. Con objeto de evitar que los extremos óseos de las probetas patinaran de sus sujeciones o se provocaran fracturas en las áreas de prensión de las mordazas neumáticas, se definió previamente una presión óptima de sujeción de 6 bares¹⁸.

El análisis estadístico se realizó con la prueba de la «t» de Student para datos apareados, tras comprobar el supuesto de normalidad con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. El nivel de significación estadística se estableció en $p \leq 0,05$.

Estudio histológico

Se realizó un estudio descriptivo en 2 animales de cada grupo escogidos al azar. Una vez limpias las probetas de ambas rodillas, la intervenida y su control, se fijaron en solución de formaldehído al 10% durante 24 horas, para su posterior procesamiento e inclusión en parafina. Se tomaron 3 secciones seriadas de 5 μ de cada uno de los bloques de parafina, que se tiñeron con hematoxilina-eosina, tricrómico de Masson (para evidenciar las fibras de colágeno) y azul alcian (para mucopolisacáridos ácidos). Se estudiaron la celularidad, características de la matriz extracelular, orientación de las fibras de colágeno y vascularización, tomando siempre como patrón y referencia el tendón contralateral no intervenido.

RESULTADOS

Inspección macroscópica

En algunos casos, los exámenes macroscópicos de los tendones estudiados no mostraron rasgos diferenciales entre

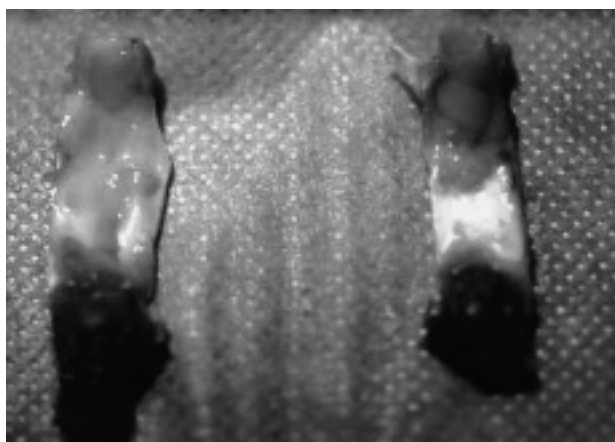


Figura 1. Imagen macroscópica posteutanasia de ambos tendones rotulianos por su cara posterior. A la izquierda el tendón intervenido, que destaca por el mayor tamaño, consecuencia del proceso de cicatrización; a la derecha su control sano.

los operados y sus controles respectivos, excepto la «huela» de la intervención quirúrgica practicada. Sin embargo, en la mayoría de ocasiones el proceso cicatrizal incluía todo el tendón, dificultando la exacta identificación de sus límites respecto de los tejidos retinaculares circundantes y aumentando su grosor (fig. 1). El área de sección media de los tendones operados en ambos intervalos de tiempo fue más del doble que la de sus controles, con una diferencia significativa ($p < 0,008$) desde el punto de vista estadístico (tabla 1).

Biomecánica

En los ensayos de tracción se consideraron los resultados del grupo control como patrón o 100%. A los 3 meses de evolución, los valores de *fuerza máxima* de los tendones operados fueron un 71% del control ($p < 0,008$). Sin embargo, en el mismo intervalo los valores de *rigidez* y *módulo de Young* representaban un 63,2% ($p < 0,163$) y 66,1% ($p < 0,194$) respectivamente, no observándose diferencias significativas respecto a sus controles (tabla 2). A los 12 meses, el análisis de los mismos parámetros mostró en los tendones operados que la *fuerza máxima* a rotura había mejorado alcanzando el 85,5% ($p < 0,001$), mientras que la *rigidez* lle-

Tabla 1. Valores promedio y desviación estándar del área de sección calculada para los tendones operados y sus controles a 3 y 12 meses

	3 meses		12 meses	
	x	DE	x	DE
Control	17,6 mm ²	2,0 mm ²	18,2 mm ²	2,1 mm ²
Operado	35,3 mm ²	4,8 mm ²	37,3 mm ²	3,9 mm ²

DE: desviación estándar; x: valor promedio.

Tabla 2. Valores promedio (x) y desviación estándar (DE) de los parámetros biomecánicos obtenidos en los tendones operados y sus controles a los 3 meses de la cirugía

	Fuerza máx (N)*		Rigidez (N/mm)**		M. Young (MPa)***	
	x	DE	x	DE	x	DE
Operado	317,3	55	29,8	14,8	250	120
Control	446	80,5	47,1	17,3	377,8	137,1

La diferencia en los valores de fuerza máxima entre controles y operados resultó significativa para un nivel de $p < 0,05$. * $p < 0,008$; ** $p < 0,163$; *** $p < 0,194$. N: newtons; mm: milímetro; MPa: megapascals; M. Young: módulo de Young.

gaba al 76% ($p < 0,015$) y el *módulo de Young* al 92,8% ($p < 0,043$) respecto a sus controles sanos (tabla 3).

Histología

En el examen microscópico, los tendones control mostraron un patrón constante de haces homogéneos y paralelos de fibras de colágeno, longitudinalmente orientadas en el sentido de la tracción y sin apenas matriz extracelular ni estructuras vasculares. Se observaron también finos septos situados entre los fascículos, algunas terminaciones nerviosas de tipo mielínico, escasa celularidad y en general un área de sección pequeña. Características idénticas a estos controles, correspondientes a un tejido tendinoso maduro, pudieron observarse en las zonas periféricas de las secciones de los TR intervenidos.

Por el contrario, el tejido regenerado en la parte central de los cortes histológicos mostró colágeno neoformado en diversos estadios de maduración y orientación, dependiendo del momento en que fuera estudiado. Entre la zona central, correspondiente al tejido regenerado, y la periférica de tejido tendinoso normal, existía una tercera «de transición» que presentaba características intermedias entre las anteriores y abundante trama vascular (fig. 2). Al año de evolución el tejido regenerado presentaba un grado de organización y orientación de sus fibras superior al observado a los 3 me-

Tabla 3. Valores promedio (x) y desviación estándar (DE) de los parámetros biomecánicos obtenidos en los tendones operados y sus controles a los 12 meses

	Fuerza máx (N)*		Rigidez (N/mm)**		M. Young (MPa)***	
	x	DE	x	DE	x	DE
Operado	391	86,5	39,3	11,2	353,6	99,6
Control	457,3	92,8	51,6	17,1	381	109,2

La diferencia entre controles y operados de todos los valores estudiados resultó significativa para un nivel de $p < 0,05$. * $p < 0,001$; ** $p < 0,015$; *** $p < 0,043$. N: newtons; mm: milímetro; MPa: megapascals; M. Young: módulo de Young.

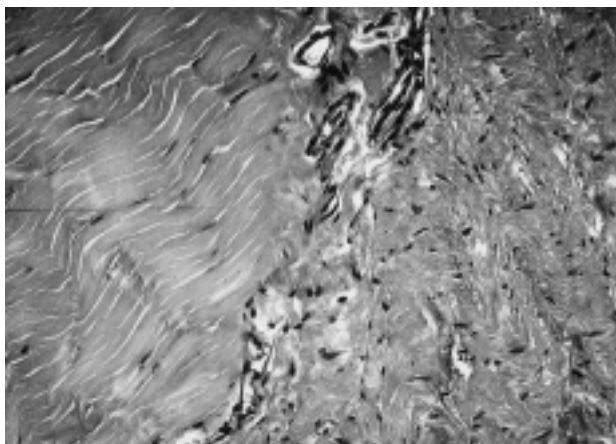


Figura 2. Sección transversal microscópica de un tendón rotuliano a los 3 meses de la operación. A la izquierda puede observarse tejido tendinoso sano, con su microarquitectura normal. A la derecha, el tejido en fase de cicatrización, con peor orientación de las fibras de colágeno y abundante celularidad. Dividiendo ambas está la zona de transición, con elementos vasculares (hematoxilina-eosina, magnificación $\times 400$).

ses, como consecuencia de la evolución del proceso de cicatrización, aunque todavía alejado del patrón de normalidad (fig. 3).

DISCUSIÓN

Los mecanismos de cicatrización y la morbilidad generada en la zona dadora del injerto del TR han despertado gran interés en los últimos años^{7,23}. Se acepta, en general, que la cicatrización de los defectos creados en el TR, incluso cuando no son suturados, tiene lugar a través de la neoformación de tejido colágeno, que madura progresivamente

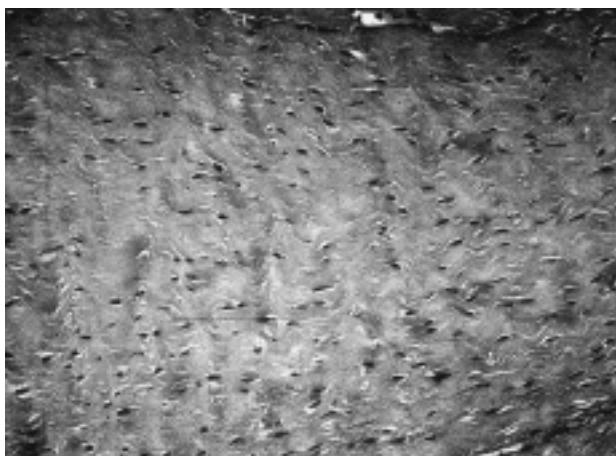


Figura 3. Corte histológico de un tendón rotuliano a los 12 meses de la operación. Nótese el mayor grado de organización y homogeneidad del patrón tisular, aunque todavía con alta densidad nuclear (hematoxilina-eosina, magnificación $\times 400$).

hasta rellenar toda la cavidad y ser indistinguible del tejido circundante¹⁰.

Benedetto et al⁸ fueron los primeros en recomendar la reutilización del TR en casos de rotura iterativa de plastias de reconstrucción del LCA, al comprobar mediante ecografía que el defecto tendinoso creado previamente estaba totalmente regenerado a los 2 años de la intervención. Nixon et al¹ y Meisterling et al¹² llegaron a parecidas conclusiones, tras estudiar tendones rotulianos a los que se había extraído su tercio central mediante biopsia y resonancia magnética nuclear (RMN), respectivamente. Sin embargo, más recientemente, Liu et al han cuestionado estos resultados al observar la persistencia del defecto creado en el TR en 6 de 16 rodillas intervenidas para reconstruir el LCA¹⁹.

En el terreno experimental, Burks et al¹⁰ demostraron en un modelo canino que a los 3 meses de evolución existía una disminución de la resistencia y rigidez del 70% en el TR intervenido. Resultados semejantes obtuvieron Kamps et al¹¹ y Monllau¹⁸ en conejos, a los que la extracción del tercio central del TR produjo una disminución global de la resistencia del tendón residual al 72% del control. Por su parte, Beynnon et al⁹, en un modelo similar, observaron que los valores de resistencia del tendón operado oscilaban desde un 53% en el tiempo cero del experimento, hasta un 72% a los 6 meses de la operación, por lo que concluyeron que la resistencia parecía evolucionar hacia la normalidad a medida que el tiempo de curación avanzaba.

El presente estudio, al igual que los precedentes^{9-11,18}, demuestra que en el conejo existe una disminución significativa de las propiedades biomecánicas del TR intervenido respecto del tejido original, a los 3 meses de la extracción de un tercio de su masa. Aunque es manifiesta una tendencia a la mejoría, estos parámetros siguen alterados al año de evolución, lo que demuestra que el tejido neoformado no ha adquirido todavía las cualidades estructurales previas a la cirugía. Este último dato está en la misma línea de las recientes observaciones de Proctor et al que, en un modelo caprino, determinaron específicamente las propiedades biomecánicas del tejido regenerado en el tercio central del TR a los 21 meses de la cirugía, demostrando que la resistencia del tejido neoformado sólo alcanzaba el 50% de su control⁶.

El proceso de reorientación o remodelación de las fibras colágenas es el responsable del incremento progresivo de las propiedades biomecánicas del tendón lesionado¹⁴. El estudio histológico realizado en este trabajo muestra un tejido cicatrizal exuberante, con un área de sección de más del doble que su control sano, con un grado de organización tisular que mejora con el tiempo, aunque persiste desorganizado al año de evolución. Los resultados de la histología parecen correlacionarse directamente con las propiedades mecánicas observadas en los diferentes intervalos.

En el momento de diseñar el presente estudio se decidió dejar abierto, sin suturar, el defecto creado en el TR aproximando únicamente los bordes del paratenon, como hacen

muchos autores en clínica humana. Recientemente, se ha sugerido que la sutura directa del defecto tendinoso podría influir positivamente en el proceso de cicatrización mejorando los resultados histológicos²³. Sin embargo, queda por confirmar si esta maniobra conduce también a un incremento de las cualidades biomecánicas del tendón intervenido.

Pese a que las roturas del TR secundarias a la extracción de injertos hueso-tendón-hueso (H-T-H) son raras, otros problemas directamente atribuibles a la morbilidad que se genera en la zona dadora del injerto, como son las tendinitis, cambios de la longitud del tendón y algias femoropatellares, son ciertamente frecuentes. Las alteraciones evidenciadas en las propiedades estructurales y la histología del neotendón en proceso de cicatrización en el presente modelo pueden contribuir a explicarlas. Por otra parte, estos datos sugieren que al menos durante 1 año la reutilización del TR de estos animales previamente intervenido para extraer nuevos injertos H-T-H, podría resultar en injertos más débiles que los procedentes de un tendón original inalterado.

AGRADECIMIENTOS

Al doctor Joan Vila Domenech, bioestadístico de l'Institut Municipal d'Investigació Mèdica (IMIM), por su inestimable colaboración en el procesamiento estadístico de datos.

BIBLIOGRAFÍA

- Nixon RG, SeGall GK, Sax SL, Cain TE, Tullos HS. Reconstitution of the patellar tendon donor site after graft harvest. *Clin Orthop* 1995; 317:162-71.
- Noyes FR, Butler DL, Grood ES, Zernicke RF, Hefzy MS. Biomedical analysis of human ligament grafts used in knee-ligament repairs and reconstructions. *J Bone Joint Surg Am* 1984; 66A:344-52.
- Proctor CS, Jackson DW, Simon TM. Characterization of the repair tissue after removal of the central one-third of the patellar ligament. *J Bone Joint Surg Am* 1997; 79A:997-1006.
- Del Corral A, Moreno JL, Forriol F, Cañadell J. Efectos de la crioconservación sobre el comportamiento mecánico del ligamento rotuliano. Estudio experimental en corderos. *Rev Ortop Traumatol* 1998;42:225-30.
- Frank CB, Jackson DW. The science of reconstruction of the anterior cruciate ligament. *J Bone Joint Surg Am* 1997; 79A: 1556-76.
- O'Brien SJ, Warren RF, Pavlov H, Panariello R, Wickiewicz TL. Reconstruction of the crhronically insufficient anterior cruciate ligament with the central third of the patellar ligament. *J Bone Joint Surg Am* 1991;73A:278-86.
- Rubinstein RA, Shelbourne KD, Van Meter CD, McCarroll JC, Rettig AC. Isolated autogenous bone-patellar tendon-bone graft site morbidity. *Am J Sports Med* 1994;22:324-7.
- Benedeto KP, Sperner G, Gloetzer W, Fritschy D, Gautard R. Ultrasonographic study of patellar tendon following graft dissection for ACL-replacement. *Am J Sports Med* 1989;17:709.
- Beynnon BD, Proffer D, Drez DJ, Stankewich CJ, Johnson RJ. Biomechanical assessment of the healing response of the rabbit patellar tendon after removal of its central third. *Am J Sports Med* 1995;23:452-7.
- Burks RT, Haut RC, Lancaster RL. Biomechanical and histological observations on the dog patellar tendon after removal of its central one third. *Am J Sports Med* 1990;18:146-53.
- Kamps BS, Linder LH, De Camp CE, Haut RC. The influence of immobilization vs exercise on scar formation in the rabbit patellar tendon after excision of the central third. *Am J Sports Med* 1994;22:803-11.
- Meisterling RC, Wadsworth T, Ardill R, Griffiths H, Lane-Larsen L. Morphologic changes in the human patellar tendon after Bone-Tendon-Bone anterior cruciate ligament reconstruction. *Clin Orthop* 1993;289:208-12.
- Bonatus TJ, Alexander AH. Patellar fracture and avulsion of the patellar ligament complicating arthroscopic anterior cruciate ligament reconstruction. *Orthop Rev* 1991;20:770-4.
- Sachs RA, Daniel, DM, Stone ML, Garfein RF. Patellofemoral problems after anterior cruciate ligament reconstruction. *Am J Sports Med* 1989;17:760-5.
- Bonamo JL, Krinick RM, Sporn AA. Rupture of the patellar ligament after use of its central third for anterior cruciate ligament reconstruction. A report of two cases. *J Bone Joint Surg Am* 1984;66A:1294-7.
- Langan P, Fontanetta AP. Rupture of the patellar tendon after use of its central third. *Orthop Rev* 1987;16:61-5.
- Marumoto JM, Mitsunaga MM, Richardson AB, Medoff RJ, Mayfield GW. Late patellar tendon ruptures after removal of the central third for anterior cruciate ligament reconstruction. A report of two cases. *Am J Sports Med* 1996;4:698-701.
- Monllau JC. Estudio biomecánico e histológico de un modelo de reparación del tendón rotuliano en animal de experimentación. Tesis Doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, 1999.
- Liu SH, Hang DW, Gentili A, Finerman GAM. MRI and morphology of the insertion of the patellar tendon after graft harvesting. *J Bone Joint Surg Br* 1996;78B:823-6.
- Monllau JC, Cugat JC, Alameda F, Ballester J. Elongación del tendón rotuliano tras la extracción de su tercio central. *Cuadernos de Artroscopia* 2001;8:33-6.
- Gómez Barrena E, Fernández-Baillo N, Ordóñez JM, Martínez E. La rodilla en el animal de experimentación. Morfología y cinemática comparadas y su aplicación a los modelos experimentales de rodilla. *Rev Ortop Traumatol* 1991;35:100-12.
- Woo SLY, Young EP. Structure and function of tendons and ligaments. En: Mow VC, Hayes WC, editores. *Basic Orthopaedic Biomechanics*. New York: Raven Press 1991.
- Milano G, Gigante A, Schiavonne-Panni A, Mulas PD, Fabbriani C. Patellar tendon healing after removal of its central third. A morphologic evaluation in rabbits. *Knee Surg Sports Med Traumatol Arthrosc* 2001;9:92-101.