

Evaluación Biomecánica y Morfológica de una Prótesis Artificial de Ligamento Cruzado Anterior a Base de Kevlar® en un Modelo Animal

Rodolfo Morales Avalos¹, Santiago de la Garza Castro¹, Jessica Karina Cerda Barbosa¹, José Félix Vílchez Cavazos¹, Rodrigo E. Elizondo Omaña², Adolfo Soto Domínguez³, Víctor Manuel Peña Martínez¹, Carlos Acosta Olivo¹, Carlos E. González Rivera¹.

Servicio de Ortopedia y Traumatología¹, Departamento de Anatomía Humana², Departamento de Histología³.
Facultad de Medicina y Hospital universitario "Dr. José Eleuterio González" de la Universidad Autónoma de Nuevo León (U.A.N.L.), Monterrey, Nuevo León, México.

Resumen— **Objetivo.** Evaluar las características clínicas, biomecánicas y morfológicas de un ligamento protésico a base de Kevlar® como injerto sintético de ligamento cruzado anterior en un modelo animal de experimentación en conejos.

Métodos. Se analizaron 27 rodillas de conejos distribuidas aleatoriamente en tres grupos de estudio (control, excisión del ligamento cruzado anterior y remplazo del ligamento cruzado anterior con una prótesis de Kevlar®) en los cuales fueron analizados mediante pruebas clínicas, biomecánicas y morfológicas a las 6, 12 y 18 semanas post procedimiento.

Resultados. El promedio de los desplazamientos en las pruebas mecánicas fue de 0.73 ± 0.06 mm, 1.58 ± 0.19 mm y 0.94 ± 0.20 mm para el grupo control, excisión del LCA y remplazo del LCA con prótesis sintética respectivamente. Los resultados muestran una mejoría en la estabilidad de la rodilla con el uso de la prótesis sintética de Kevlar® en las pruebas biomecánicas ($p < 0.05$) frente a conejos a los que se les realizó excisión del ligamento cruzado anterior, así como desplazamientos mayores pero comparable a la del grupo control ($p > 0.05$) entre el grupo remplazo y el grupo control. El estudio histológico reveló una buena adaptación morfológica del material sintético a la rodilla.

Conclusiones. Este estudio propone un nuevo modelo animal para la colocación y evaluación de implantes sintéticos de LCA a base de Kevlar®. La prótesis estudiada mostró un comportamiento prometedor en las pruebas clínicas y biomecánicas así como en el análisis histológico. Este estudio sentara las bases para estudios básicos y clínicos posteriores de prótesis artificiales del LCA utilizando este material.

Palabras clave— Conejos, injerto, Kevlar®, ligamento cruzado anterior, morfología, sintético.

I. INTRODUCCIÓN

La ruptura del ligamento cruzado anterior (LCA) es una de las patologías más comunes en la cirugía ortopédica moderna, especialmente en aquellos pacientes que participan en actividades deportivas [1]. Existe una incidencia anual estimada de ruptura del LCA de 1/3,000 habitantes en la población general de los Estados Unidos lo cual se traduce en más de 150,000 nuevas rupturas de ligamento cruzado anterior al año con más de 100,000 reconstrucciones quirúrgicas reportadas por año [1-3]. Este ligamento muestra una pobre capacidad intrínseca para la curación debido a su pobre vascularidad y a que está envuelto por membrana

sinovial, por lo que se opta por tratamiento quirúrgico en la mayoría de los casos [4].

La reconstrucción quirúrgica pretende reproducir las funciones del ligamento cruzado anterior nativo. Sin embargo, debido a su compleja anatomía, biomecánica y función para estabilizar la rodilla en sus múltiples rangos de movimiento no ha sido posible reproducir completamente la función del LCA [5].

Se han utilizado múltiples materiales para fabricar una prótesis de ligamento cruzado anterior tales como la seda, plata, politetrafluoroetileno (PTFE), poliéster, carbono, polipropileno, polietileno terftalato, entre muchos otros con resultados no óptimos [6, 7]. Estudios previos han utilizado modelos animales en conejo para la evaluación de distintos tipos de tejidos como probables injertos de LCA con resultados variables [8, 9]. Sin embargo el uso del material propuesto en este estudio no ha sido evaluado previamente como una prótesis sintética de LCA. Kevlar® de Dupont es una fibra orgánica de la familia de las poliamidas aromáticas y que cuenta con propiedades químicas únicas que le brindan capacidades mecánicas y de resistencia que hipotetizamos pudieran ser útiles para la reconstrucción del ligamento cruzado anterior de la rodilla [10].

El presente estudio tuvo por objetivo proponer y evaluar las características clínicas, biomecánicas, morfológicas y de biocompatibilidad del uso de una prótesis sintética de ligamento cruzado anterior en rodillas de conejos a base de Kevlar®.

II. METODOLOGÍA

Ensayo clínico controlado aleatorizado con un diseño experimental de laboratorio, longitudinal, prospectivo y comparativo.

Características de la Población

Se utilizaron 27 conejos blancos de la especie Nueva Zelanda (*Oryctolagus Cuniculus*), de género masculino, adultos jóvenes (rango de edad entre 5 y 6 meses), con un peso entre 3.5 a 4.5 kilogramos, esqueléticamente maduros y clínicamente sanos. El cálculo del tamaño de la muestra se realizó mediante un muestreo no probabilístico, en base a la disposición de animales de laboratorio. El manejo de los animales de laboratorio se realizó de acuerdo a la Normal

Oficial Mexicana 062-ZOO-1999, alojados en cuartos con luz y temperatura controlada y alimentados con dieta para conejos estandar (8630 Tekland 15% alimento de conejo) y agua destilada ad libitum.

Grupos de estudio

En base a la totalidad de animales de experimentación (n=27), se generaron tres grupos de experimentación, en los cuales los animales fueron distribuidos aleatoriamente. El Grupo Control (C) fue conformado por 9 conejos a los cuales no se les realizó ninguna intervención y solamente fueron seguidos en el tiempo. El Grupo Excisión (E) fue conformado por 9 conejos a los cuales se les realizó la excisión quirúrgica del LCA de la rodilla derecha. El Grupo Reemplazo (R) fue conformado por 9 conejos a los que se les realizó la excisión quirúrgica del LCA y durante el mismo procedimiento se realizó la reconstrucción del mismo con una prótesis de material sintético, la cual consistía en cintas de Kevlar 49 de Dupont® de 3 cm de longitud, ancho de 0.5 cm, 200 denier de espesor, 1000 filamentos en una disposición trenzada para la sustitución del ligamento cruzado anterior en los conejos.

Cada uno de los tres grupos antes mencionados, se subdividió de manera proporcional en tres para la realización de las pruebas clínicas, análisis histológico y pruebas mecánicas a las 6, 12 y 18 semanas post procedimiento

Técnica Quirúrgica

La totalidad de las cirugías fueron realizadas por el mismo cirujano (SGC) subespecialista en cirugía de rodilla en las instalaciones del Laboratorio de Cirugía Experimental del Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la U.A.N.L. Posterior a un ayuno de 8 horas, bajo anestesia utilizando ketamina-xilacina (vía intramuscular 40 mg/kg) y pentobarbital sódico (intravenosos 50 mg/kg) de acuerdo a la dosis ponderal. Una vez bajo el efecto anestésico se realizó tricotomía de la rodilla derecha y se realizó la asepsia del área quirúrgica realizando un lavado exhaustivo con clorhexidina. Bajo técnica estéril se colocaron campos estériles para aislar la rodilla derecha. Una vez realizado lo anterior se procedió a realizar una artrotomía anterior de la rodilla derecha en una posición de decúbito supino iniciando con una incisión anterior sobre la rodilla derecha de 4 centímetros de longitud.

Se realizó la disección por planos hasta la cápsula articular la cual fue incidida en sentido medial 2 centímetros proximal a la inserción del tendón del cuádriceps en la rótula y fue prolongada hasta la zona de inserción del tendón rotuliano en la tuberosidad anterior de la tibia. Posteriormente se realizó una sinovectomía parcial abierta y se reseco también en forma parcial la grasa de Hoffa, realizando posteriormente una luxación lateral de la rótula

para permitir una mayor visibilidad de la escotadura intercondílea (Figura 1a). Posteriormente se identificó el ligamento cruzado anterior tomando como referencia su inserción en la cara medial del cóndilo lateral del fémur en su porción proximal así como su inserción en la espina tibial anterior en el centro del platillo tibial. Una vez localizado el ligamento cruzado anterior éste fue resecado en su totalidad con instrumentos cortantes (Figura 1b).

Se comprobó en forma transquirúrgica la inestabilidad anterior de la rodilla, realizando una prueba de Lachman transoperatoria. Una vez que se hubo comprobado la inestabilidad anterior de la rodilla, en los 9 conejos que pertenecían al grupo Excisión, se les realizó un lavado articular, se suturó la cápsula con material absorbible (Vicryl 4-0), así como el tejido celular subcutáneo y la piel, dando por terminado el procedimiento. En los 9 conejos del grupo Reemplazo se continuó el procedimiento con la realización de los túneles óseos para la colocación del ligamento protésico como se describe a continuación. Manteniendo la rodilla en flexión de 100° se identificó la zona de inserción del ligamento cruzado anterior en la cara medial del cóndilo femoral lateral de la rodilla y a través de la escotadura intercondílea se practicó un túnel femoral con una broca de 2 milímetros de diámetro con dirección de medial a lateral y de distal a proximal, hasta perforar la cortical lateral del fémur (Figura 1c); luego se procedió a realizar el túnel tibial tomando como referencia la espina tibial anterior, desde donde se practicó un túnel tibial con broca de 2 milímetros, con dirección del centro a la cortical medial y de proximal a distal, hasta perforar la cortical medial de la tibia (Figura 1d). Posteriormente se pasó a través de los túneles la prótesis de ligamento cruzado anterior a base de Kevlar®, iniciando por el túnel tibial, para salir hacia la escotadura intercondílea y posteriormente por el túnel femoral hacia la cortical lateral del fémur (Figura 1e)

Una vez que la prótesis se posicionó esta se tensionó en forma manual y se fijó a los túneles con tornillos corticales de compresión de 3.5x 12 mm (Synthes, EUA) en forma unicortical a manera de tornillo interferenciales (Figura 1f). Una vez realizado lo anterior, se comprobó en forma transoperatoria la estabilidad de la rodilla brindada por el ligamento protésico, la cápsula y la piel fueron suturadas con material absorbible. Se confirmó la colocación correcta del tornillo con proyecciones AP y lateral de rodilla derecha post procedimiento (Figuras 1g y 1h).

Los animales fueron manejados con antibiótico y analgésico en el posoperatorio inmediato durante un periodo de 5 días. Utilizándose cefalotina (13 mg/kg vía intramuscular cada 6 horas) y metamizol sódico en forma subcutánea (50 mg/kg cada 8 horas).

Evaluación Clínica

Se evaluaron 9 conejos a través de pruebas clínicas a las 6, 12 y 18 semanas del inicio del protocolo que incluyeron:

análisis de la marcha y prueba de Lachman. En cuanto al análisis de la marcha se evaluó subjetivamente si ésta fue normal o anormal, considerándose anormal toda marcha que fuera disbásica o claudicante, haciendo pasar al conejo por una superficie lisa y recta de 10 metros de longitud y 50 centímetros de anchura. En cuanto a la prueba de Lachman, ésta fue realizada en todas las rodillas estudiadas y se comparó con las rodillas contralaterales del mismo animal de experimentación.

Los conejos de los tres grupos fueron sacrificados a las 6, 12 y 18 semanas mediante inhalación de CO₂ emitido por un cilindro de gas comprimido en una cámara cerrada y sus rodillas fueron obtenidas para su posterior análisis.

Pruebas biomecánicas

Las pruebas fueron llevadas a cabo en una máquina universal de tensión compresión de la empresa Shimadzu® (Modelo AG-20kN/50kNXplus). Las extremidades de los conejos fueron montadas en la máquina a través de mordazas especialmente diseñadas para el estudio. Cada rodilla derecha fue probada en la máquina con una prueba de cajón anterior a 90° de flexión. La máquina se programó para una velocidad de movimiento de 15 mm/min, y con una fuerza progresiva de 20 N (que representa el 45% del peso del conejo aproximadamente). Se realizaron gráficas de los desplazamientos obtenidos con respecto a la fuerza aplicada en un programa de computadora adaptado a la máquina de pruebas.

Análisis Histológico y Morfológico

Se evaluaron un total de 9 rodillas. Para ello, los especímenes fueron enviados en estado fresco y fueron incluidos en formaldehído al 10%, y posteriormente se les aplicó solución de descalcificación, donde fueron mantenidos durante un periodo de 24 horas posterior a lo cual, las piezas fueron cortadas en forma coronal, sagital y axial, en secciones de 1 x 1 cm, para su inclusión en cassetes. Posteriormente se aplicó la técnica histológica convencional. En el grupo remplazo se realizó la preparación de siete laminillas (tejido alrededor de los túneles óseos practicados a la tibia y al fémur, tejido sinovial de la articulación así como de ambos meniscos y cartilago articular adyacente a ambos los túneles óseos). En los grupos control y remplazo se prepararon laminillas del LCA nativo, cartilago articular y hueso subcondral, membrana sinovial y meniscos. En las secciones correspondientes a los túneles de inserción se evaluó la superficie del cartilago articular, la existencia de integración del material protésico al hueso del huésped, presencia de osificación del material protésico, y otros hallazgos tales como fibrosis, inflamación y congestión vascular. En los cortes correspondientes a meniscos, se evaluó el estado del cartilago y el estado de las fibras de colágena. En las secciones correspondientes a la cápsula se valuó la presencia de hiperplasia sinovial y

reacción inflamatoria. En los cortes de las rodillas del grupo Control y Excisión se evaluó la morfología del ligamento del ligamento nativo, cartilago articular y hueso subcondral, membrana sinovial y meniscos.

Consideraciones Éticas

El presente protocolo fue aprobado por el Comité de Ética y Comité de Investigación con el número de registro OR10-007. No existen ganancias financieras o comerciales para la realización de este estudio, por lo que los autores declaran no tener conflictos de interés. El manejo de los animales de laboratorio se realizó de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana 062-ZOO-1999.

Análisis Estadístico

Se realizó utilizando el programa computacional Excel 2010 para Windows XP. Se realizó un análisis de distribución de frecuencias para los resultados del análisis de la marcha y la prueba de Lachman, se determinó la media y desviación estándar para el desplazamiento mostrado en el análisis biomecánico de las rodillas. Se aplicaron pruebas de correlación paramétrica (t student) de dos colas para variables independientes con el fin de determinar la significancia de las diferencias entre los resultados promedio de los desplazamientos obtenidos en las pruebas biomecánicas a las 6, 12 y 18 semanas en los diferentes grupos de estudio (control vs escisión, control vs remplazo y escisión vs remplazo), considerando como significativo un valor de p inferior a 0.05.

III. RESULTADOS

Pruebas Clínica

Los resultados de las pruebas clínicas de los tres grupos de animales se muestran en la tabla 1. Los conejos del grupo control siempre mostraron resultados normales en la evaluación de la marcha y la prueba de Lachman. Los conejos del grupo excisión obtuvieron resultados anormales en la marcha así como pruebas de Lachman positivas a las 6, 12 y 18 semanas post procedimiento. En los individuos del grupo remplazo se evidenció una prueba de marcha anormal a las 6 semanas post procedimiento normalizándose en ambos casos la marcha a las 12 y 18 semanas, la prueba de Lachman fue negativa en los tres momentos de evaluación.

Análisis Morfológico e Histológico

En los cortes de las rodillas del grupo Control a las 6, 12 y 18 semanas pudieron apreciarse fibras de colágena con una disposición regular y ausencia de células inflamatorias, la capa más superficial de cartilago articular unido a la placa de hueso subcondral se muestra denso, así como las trabéculas óseas y secciones de hueso trabecular sin

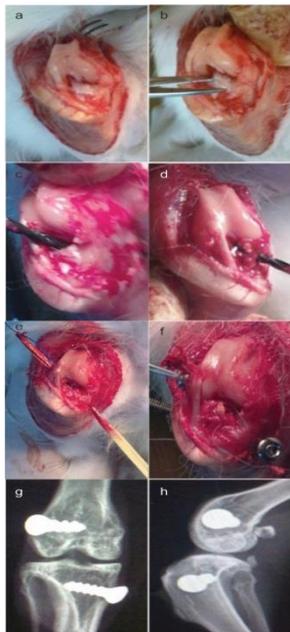


Fig 1. a. Abordaje anterior de la rodilla con exposición de la fosa intercondílea. b. Excisión del LCA. c. Técnica de colocación del túnel tibial. d. Técnica de colocación del túnel femoral. e. Prótesis de ligamento cruzado anterior de Kevlar® en su posición final. f. Fijación de la prótesis con tornillos. g y h. Radiografías anteroposterior y lateral de rodilla derecha post procedimiento respectivamente.

Alteraciones, las células sinoviales presentaron una disposición lineal y sin datos de proceso inflamatorio a nivel de la membrana sinovial. El cartilago articular no mostro ningún tipo de alteración morfológica.

En los cortes de las rodillas del grupo Reemplazo se observó un proceso inflamatorio alrededor del implante, con presencia de abundantes células hiperromáticas de núcleos grandes a las seis semanas. A las doce semanas se observó al ligamento protésico rodeado de células inflamatorias con datos de inicio de osificación o integración a hueso adyacente. A las dieciocho semanas se observó osificación completa del ligamento protésico con invasión de todo el canal por hueso compacto así como una disminución del proceso inflamatorio.

Pruebas Biomecánicas

Los conejos que sirvieron como grupo de Control, no mostraron inestabilidad anterior de la rodilla, como era de esperar en una rodilla con ligamento cruzado anterior intacto mostrando un desplazamiento promedio de 0.73 ± 0.06 mm con una fuerza aplicada de 20 N, mostrando un desplazamiento menor a 1 mm, siendo esto considerado como una rodilla estable. Los conejos del grupo excisión, mostraron importantes desplazamientos anteriores de la tibia con respecto al fémur. El promedio el desplazamiento mostrado por las rodillas de los conejos de este grupo fue de 1.58 ± 0.19 mm con una fuerza aplicada de 20 N. El grupo reemplazo no mostró diferencias significativas ($p= 0.19$) en

cuanto a la estabilidad anterior de la rodilla en comparación con los conejos del grupo a los que se les realizó la excisión de este ligamento mostrando desplazamientos similares a los del grupo control. El promedio de desplazamiento mostrado por las rodillas de este grupo fue de 0.94 ± 0.20 mm, siendo similar al comportamiento del grupo Control. La rodilla del conejo del grupo reemplazo que se sacrificó a las 6 semanas mostró un desplazamiento final de 1.180 mm, la rodilla del conejo que se sacrificó a las 12 semanas mostró un desplazamiento terminal de 0.875 mm y la rodilla del conejo que se sacrificó a las 18 semanas mostró un desplazamiento terminal de 0.784 mm.

IV. DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio proponen y evalúan el uso de una prótesis artificial de ligamento cruzado anterior a base de Kevlar® en un modelo animal, en base a la literatura consultada este material no ha sido utilizado previamente como material para una prótesis de cualquier clase en humanos, sin embargo posee ciertas propiedades físicas que podrían ser de gran valor como una prótesis de LCA como lo son su fuerza tensil, flexibilidad y estabilidad térmica y química

Los resultados del estudio determinaron que el desplazamiento promedio obtenido de las rodillas del grupo Reemplazo presentó resultados superiores, aun así no mostro diferencias significativas al compararlo con el grupo Control, del mismo modo pudo evidenciarse que estos desplazamientos mostraban un patrón de decremento conforme el paso del tiempo, hecho que podría estar relacionado a la integración y osificación de la prótesis en el tejido biológico de la rodilla al transcurrir las semanas. Un mayor tiempo de seguimiento podría demostrar que en el largo plazo la prótesis a base de Kevlar® puede llegar a integrarse por completo y por lo tanto aumentar la estabilidad en el largo plazo.

Durante el presente estudio no se utilizaron recubrimientos biológicos al material implantado, lo cual representa una limitación del estudio, pero que abre la puerta para realizar mayores investigaciones básicas y clínicas sobre este tipo de ligamentos protésicos a base de Kevlar®. Es evidente que se requiere un mayor tiempo de seguimiento para llegar a conclusiones definitivas acerca de las complicaciones que pudieran ocurrir con el uso de este material, lo cual representa otra de las limitaciones de nuestro estudio aunado al pequeño número del tamaño de la muestra.

El uso de prótesis artificiales del LCA a base de Kevlar® mostró un comportamiento prometedor en las pruebas clínicas y biomecánicas así como en el análisis histológico. Este estudio sentará las bases para estudios básicos y clínicos posteriores de prótesis artificiales del LCA utilizando este material.

REFERENCIAS

- [1] Matsumoto H, Fujikawa K. Leeds-Keio artificial ligament: a new concept for the anterior cruciate ligament reconstruction of the knee. *Keio J Med.* 2001;50(3):161-166.
- [2] Amis AA, Kempson SA, Campbell JR, Miller JH. Anterior cruciate ligament replacement: biocompatibility and biomechanics of polyester and carbon fibre in rabbits. *J Bone Joint Surg Br.* 1988;70(4):628-634.
- [3] Northup SJ. Strategies for biological testing of biomaterials. *J Biomater Appl.* 1987;2(1):132-148.
- [4] Bollen LS. Preclinical evaluation of medical devices. *Med Device Technol.* 2000;11(8):8-11.
- [5] Williams D. Different directions for the biological evaluation of biomaterials. *Med Device Technol.* 2009;20(5):8-9.
- [6] Mody BS, Howard L, Harding ML, Parmar HV, Learmonth DJ. The ABC carbon and polyester prosthetic ligament for ACL-deficient knees: early results in 31 cases. *J Bone Joint Surg Br.* 1993;75(5):818-821.
- [7] Legnani C, Ventura A, Terzaghi C, Borgo E, Albisetti W. Anterior cruciate ligament reconstruction with synthetic grafts: a review of literature. *Int Orthop.* 2010;34(4):465-471.
- [8] Henderson JD Jr, Mullarky RH, Ryan DE. Tissue biocompatibility of kevlar aramid fibers and polymethylmethacrylate, composites in rabbits. *J Biomed Mater Res.* 1987;21(1):59-64.
- [9] Spindler KP, Wright RW. Clinical practice: anterior cruciate ligament tear. *N Engl J Med.* 2008;359(20):2135-2142.
- [10] Wan H, Williams RL, Doherty PJ, Williams DF. The cytotoxicity evaluation of Kevlar and silicone carbide by MTT assay. *J Mater Sci Mater Med.* 1994;5(6-7):441-445.