

Comportamiento biológico intraarticular de distintos aloinjertos tendinosos. Estudio experimental*

A. LLADO BLANCH* y A. NAVARRO QUILIS**

* Servicio de Ortopedia y Traumatología. Hospital de la «Esperança». ** Servicio de Cirugía Ortopédica. Ciudad Sanitaria «Vall d'Hebrón». Barcelona.

Resumen.—Se ha efectuado un estudio experimental comparativo, con valoración macro y microscópica, de la supervivencia, dentro de la articulación de la rodilla del conejo, de tendones flexores sobre extensores y dentro de estos, entre tendones conservados en fresco, congelados, liofilizados y fijados en solución de glutaraldehído al 0,2%. Los tendones se mantuvieron libres en la articulación receptora durante periodos distintos de tiempo. Entre los resultados destaca la pérdida de volumen, en el tiempo, de la masa tendinosa (18% de desapariciones totales, con un 28% de pérdida final global). Los tendones fijados en glutaraldehído fueron los que presentaron menor pérdida de volumen. Los tendones implantados en fresco y los congelados presentaron una mayor tasa de infección. La mejor respuesta de supervivencia se detectó en los tendones conservados en glutaraldehído y los congelados. Así mismo, tenían más posibilidades de sobrevivir los flexores que los extensores. Desde el punto de vista histológico, los tendones conservados en fresco desencadenaron una mayor respuesta inflamatoria, con gran alteración estructural. Desde el punto de vista microscópico no se han hallado diferencias significativas entre flexores y extensores.

INTRAARTICULAR BIOLOGICAL BEHAVIOR OF DIFFERENT TENDINOUS ALLOGRAFTS. AN EXPERIMENTAL STUDY

Summary.—Different groups of flexor and extensor tendons have been compared in their ability to survive within the rabbit knee joint. Tendons were grouped and compared according to four different storage procedures like freezing, lyophilization and fixation in 0,2% glutaraldehyde. Some of them were used in fresh. All tendons have been kept inside the joint as free graft. All specimens lost weight along the study (18% of total loosing of specimen, and 28% of global loosing). Tendons fixed in disclosed less loosing of volume. Allograft infection was related to the method of glutaraldehyde of storage, relationship being statistically significant (fresh tendons and frozen tendons were infected more easily). The best survival was found in both frozen and glutaraldehyde fixed tendons. Flexor tendons show more chances of survival than extensor tendons. Histologically, fresh tendons disclosed the greatest inflammatory reaction. Opposite to the macroscopic findings, there were no significant differences between flexors and extensor tendons in the microscopical study.

INTRODUCCIÓN

La preocupación por la reparación del ligamento cruzado anterior data de antiguo. En 1917 Hey

Correspondencia:

Dr. ANDREU LLADO BLANCH
Avda. Sant Josep de la Muntanya, 12
08024 Barcelona

* Beca del Institut Municipal d'Investigació Mèdica de Barcelona (Exp. 87/153) y del Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social (Exp. 88/1637).

Groves (1) informó de la primera reconstrucción del ligamento cruzado anterior utilizando una banda proximal del tracto iliotibial. El tratamiento de elección actual de la ruptura reciente del ligamento cruzado anterior es la plastia sustitutiva del mismo mediante autoinjertos, pues cada día se utilizan menos las transferencias musculotendinosas y, sobre todo, las plastias artificiales. En una nueva línea, se están ensayando la aplicación de aloinjertos tendinosos mantenidos mediante diferentes técnicas de conservación (congelación, liofilización, irradiación, fijación con distintos aldehídos, etc.).

Multitud de métodos de conservación de aloinjertos se han ensayado tales como liofilización (2-9), congelación (10-19), estabilización en glutaraldehído (20-30), irradiados con rayos gamma (31), esterilizados en vapores de formalina (32), en óxido de etileno (33, 34) y preservados en cialit (35). Asimismo, numerosos son los trabajos de diferentes autores comparando distintos métodos de conservación de aloinjertos entre sí, con prótesis ligamentosas y con autoinjertos (36, 40).

El hecho de la existencia de esta gran variedad de tratamientos de conservación de los injertos y la multitud de trabajos, tanto clínicos como de experimentación, que han surgido en los últimos años, nos ha inducido a efectuar el presente estudio experimental para valorar, de entre cuatro, cuál es el más adecuado tratamiento de conservación de aloinjertos tendinosos, comparando además tendones flexores con extensores.

Este estudio experimental está incluido en una línea de investigación, encaminada a lograr un sustituto biológico del ligamento cruzado anterior, mediante un haz de tendones flexores, tomados de donantes multiorgánicos y conservados con el método que demostrase ser más inocuo, antiséptico, con mayor grado de resistencia, que mejor mantenga la estructura morfológica del tendón y con más capacidad y rapidez de recelularización (41). Los objetivos de este trabajo experimental se pueden resumir en cuatro:

1. Contrastar diferentes métodos de conservación de aloinjertos tendinosos, para valorar el que demuestre mejor supervivencia del injerto, al mantenerlo libre en la cavidad sinovial de la rodilla del animal de experimentación.

2. Contrastar la viabilidad, dentro de los diferentes grupos de conservación, de los tendones flexores frente a los extensores.

3. Evaluar la relación, si existe, entre los diferentes tipos de conservación y los diferentes tipos de tendones.

4. Valorar la evolución en el tiempo de estos diferentes tipos de aloinjertos tendinosos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de la aplicación «in vivo» de los aloinjertos, en sus diferentes modalidades de conservación, se utilizó como modelo experimental la cavidad sinovial de la rodilla del conejo (*Oryctolagus cuniculus*) de la cepa Nueva Zelanda. Todos los ejemplares eran ma-

chos, de un peso (en el momento de la implantación) entre 2.400 g. y 2.600 g., que es el peso que le corresponde a los ejemplares de tres meses de edad.

A todos los animales se les aplicó el mismo régimen de estabulación y el mismo protocolo de estudio, siendo la única diferencia el modelo de aloinjerto a implantar y el tiempo de permanencia en la cavidad sinovial de la rodilla receptora.

Se intervinieron 104 rodillas de conejos (52 animales), distribuidos en cuatro grupos principales, según el tipo de implante (tabla I): Grupos de 4 animales se sacrificaron a las 4, 8 y 12 semanas para valoración de resultados, excepto con tendones flexores fijados en glutaraldehído en los que se decidió ampliar el estudio para proceder a su valoración a 22 y 32 semanas. El número de rodillas intervenidas con tendones conservados en glutaraldehído fue, por tanto, de 32.

Para la obtención de los injertos se utilizaron como donantes especímenes a los que se les había implantado un tendón previamente. En el momento del sacrificio, bajo rigurosas normas de asepsia, se tomaron los tendones flexores y extensores de las extremidades anteriores.

Los tendones en fresco se mantuvieron en un recipiente estéril con suero glucosalino al 0,5%, conservándose en un refrigerador a 4° C de temperatura, desde la obtención de los mismos hasta la implantación. Un grupo de tendones se congelaron a -86° C, previa limpieza con suero fisiológico y secada en las máximas medidas de esterilidad posibles; manteniéndose en estas circunstancias hasta el momento del implante, periodo que varió de las seis semanas a los cuatro meses. Una hora antes de su transplante, se dejaron descongelar dentro de su recipiente estéril y a temperatura ambiental.

Los tendones liofilizados se mantuvieron en su recipiente estéril y aislado de la humedad por cierre hermético (sellado) a temperatura constante en un frigorífico a 4° C. Una hora antes de su implantación se bañaron en una solución de suero fisiológico estéril, hasta el momento del transplante.

Los tendones fijados en glutaraldehído se esterizaron, fijaron y conservaron mediante solución al 0,2% de dialdehído glutárico en tampón HLI a pH 7,4 (OSM290), manteniéndose en su recipiente estéril con temperatura

Tabla I: Aloinjertos tendinosos. Rodillas intervenidas: 104.

	IV Sem.	VIII Sem.	XII Sem.
Frescos ext.	4	4	4
Frescos flex.	4	4	4
Congel. ext.	4	4	4
Gongel flex.	4	4	4
Liolf. ext.	4	4	4
Liofil. flex.	4	4	4
Glutarald. ext.	4	4	4
Glutarald. flex.	4	4	4

constante en un frigorífico a 4° C. Antes de su implantación fueron lavados con suero fisiológico en tres baños consecutivos de 15 minutos cada uno.

La inducción anestésica se efectuó con Ketamina a dosis de 30 mg. por Kg. de peso por vía intramuscular; administrándose a continuación Fluothane vaporizado junto con oxígeno, mediante mascarilla adecuada, a dosis iniciales de 3,5 a 4%, para descender progresivamente hasta el 2,5%. Así mismo se administraron sistemáticamente 200 mg., por vía intramuscular, de metamizol magnésico, como analgésico, y 500 mg. de cloxacilina, también por vía intramuscular, como pauta de profilaxis antibiótica. La vía de abordaje utilizada fue la pararro-tuliana externa, con capsulotomía longitudinal externa. A continuación se depositaba el implante en la bolsa subcuadricepsal interna comprobándose que no afectaba la mecánica articular. El cierre de la herida se efectuaba por planos. No se aplicó apósito.

Se mantuvo a todos los animales en condiciones de movimiento libre en su habitáculo durante el período de tiempo que duró la experimentación. Se observaron diariamente, durante todo el período de tiempo en el que eran «portadores» del aloinjerto tendinoso, haciendo especial hincapié en el control clínico de sus extremidades posteriores y en su aspecto general, para descartar infecciones locales o generales.

En el período de tiempo estipulado para cada implante (4, 8, 12, 20 y 32 semanas) se sacrificó al animal mediante inyección intracardíaca de 20 cc. de aire, retirándose los restos del injerto, que se remitieron para su estudio morfológico.

Estudio morfológico

Las muestras obtenidas se fijaron en formalina taponada al 10% y se efectuó el estudio morfológico, incluyendo: Examen macroscópico (aspecto externo del tendón, valorando sus consistencia, uniformidad y simetría, identificando la presencia de revestimiento sinovial y/o calcificaciones, medición del fragmento y del aspecto externo de la sinovial de la rodilla) y examen microscópico mediante inclusión en parafina en sentido longitudinal, practicándose secciones seriadas. Se practicaron tinciones histológicas en Hemotoxilina-eosina y Tricrómico de Masson. Los parámetros microscópicos valorados incluían grado de celularidad, orientación de fibras colágenas, fibrosis, vascularización, respuesta inflamatoria, presencia de membrana sinovial y de focos de calcificación y de metaplasia ósea o cartilaginosa.

Estudio estadístico

Se practicó el tratamiento estadístico de los datos numéricos obtenidos a partir del trabajo experimental. Se llevó a cabo una prueba de independencia, para verificar si la forma de conservación de los tendones tenía relación con la aparición o no de infecciones. Se tomaron ambas como variables cualitativas y la hipótesis nula fue que en la población origen de la muestra (totalidad de aloinjertos tendinosos), las dos variables eran indepen-

dientes (la forma de conservación de los aloinjertos no influye en la aparición de infecciones). Se aplicó el estadístico chi-cuadrado de Pearson dado que las frecuencias esperadas eran mayores o iguales a 5.

RESULTADOS

1. En cuanto a la articulación

Infecciones

La infección articular se ha considerado una complicación excluyente del estudio, dada la alteración de parámetros que produce tanto en el estudio macroscópico como en la valoración microscópica. Al término del período de implantación de los aloinjertos sobrevivieron 50 especímenes, pues hubo dos éxitos por infección antes del período estipulado para su sacrificio.

El número total de infecciones articulares al final del período de implantación, incluyendo los dos éxitos (4 rodillas), fue de 16 articulaciones (15%). Los gérmenes detectados en el estudio Gram y en el cultivo del líquido articular fueron staphylococcus epidermidis en nueve ocasiones y escherichia coli en siete. La distribución de las mismas fue la siguiente: 7 en trasplantes de tendones frescos (5 en extensores y 2 en flexores), 9 en trasplantes de tendones liofilizados (4 en extensores y 5 en flexores). No se demostraron infecciones en los trasplantes de tendones congelados y tratados con glutaraldehído. La relación extensores/flexores fue de 8/7.

El 42% de los tendones frescos se infectaron, en contra del 17% de flexores. El total parcial representa el 29% de los tendones conservados en fresco. La relación se invirtió en los liofilizados (33% de extensores versus 42% de flexores). El total parcial representa el 37% de los tendones implantados previa liofilización.

El estudio comparativo demuestra que se infectaron en total el 15% de los aloinjertos (6,7% se produjeron en los tendones implantados en fresco y 8,6% en los liofilizados).

Sinovitis no infecciosas

La sinovitis no infecciosa se ha considerado una complicación no excluyente del estudio, ya que esta incidencia debe valorarse como una reacción inflamatoria a tener en cuenta al implantar los diferentes tipos de injertos.

Es notorio el hecho de que se observaron sinovitis no infecciosa en 18 articulaciones: distribuidas de la siguiente manera: 3 en trasplantes de tendones frescos (1 en extensores y 2 en flexores), 8 en trasplantes de tendones congelados (4 en extensores y en 4 flexores), 5 en trasplantes de tendones liofilizados (4 en extensores y 1 en flexores) y 2 en trasplantes de tendones tratados con glutaraldehído (flexores). La relación flexores/extensores fue semejante: 9/9.

La existencia de sinovitis no infecciosa en las rodillas en las que se implantaron tendones congelados fue la más elevada: 33%; lo que representa el 8% del total de tendones trasplantados. La afectación de los tendones implantados en fresco fue del 12,5%, lo que representa el 3% del total. Los tendones liofilizados presentaron 21% de sinovitis no infecciosa, que representa el 5% del total. El nivel más bajo de sinovitis no infecciosa se observó en los tendones fijados con glutaraldehído, con un 8%; lo que representó el 2% del total de tendones implantados.

Otras incidencias

Si añadimos un caso de neoplasia condroide de un implante conservado en glutaraldehído, que se adhirió al cóndilo femoral interno, el número total de complicaciones fue de 35. La relación de complicaciones entre extensores y flexores fue la siguiente: a) Extensores: 18/44, lo que representa el 37% del total de los mismos. b) Flexores: 17/56, que corresponde al 30% de los flexores.

Tal y como se observa en la tabla II, sólo se complicaron el 9% de los implantes conservados en glutaraldehído (3 de 32); en cambio, una tercera parte (8 de 24) de los tendones congelados sufrieron complicaciones (33%). Los tendones implantados en fresco presentaron complicaciones en 42%

Tabla II: Aloinjertos tendinosos. Complicaciones: 35.

	IV Sem.	VIII Sem.	XII Sem.	XX Sem.	XXXII Sem.
Frescos ext.	2-1 (2)	2-1 1-S(3)	1-1 (1)		
Frescos flex.	1-1 1-S(2)		1-1 1-S(2)		
Congel. ext.	2-S (2)		2-S (2)		
Congel. flex.	3-S (3)	1-S (1)			
Liofil. ext.	2-1 1-S(3)	2-S (2)	2-1 1-S(3)		
Liofil. flex.	1-1 (1)	2-1 1-S(3)	2-1 (2)		
Glutarald. ext.					
Glutarald. flex.			2-S (2)		1-M (1)

I: infección; S: sinovitis no infecciosa; M: metaplasia.

Tabla III: Aloinjertos tendinosos. Total injertos estudiados: 69.

	IV Sem.	VIII Sem.	XII Sem.	XX Sem.	XXXII Sem.
Frescos ext.	2				
Frescos flex.	3	3			
Congel. ext.	4	4	2		
Congel. flex.	4	4	4		
Liofil. ext.	2	1			
Liofil. flex.	3	1			
Glutarald. ext.	4	4	4		
Glutarald. flex.	4	4	4	4	4

(10 de 14) y los tendones liofilizados, en una clara desventaja, presentaron complicaciones en más de la mitad de los casos (14 de 24, lo que representa el 58%). No existía una relación directa entre el tiempo transcurrido y el aumento del número total de complicaciones.

2. En cuanto al injerto

Fue posible el estudio microscópico de 69 muestras, una vez eliminadas las que cursaron con infección articular, y lógicamente, las muestras no halladas en la cavidad sinovial (pérdida total de volumen) como veremos más adelante. La distribución fue la siguiente (tabla III): 8 injertos de tendones de fresco, 22 injertos de tendones congelados, 7 injertos de tendones liofilizados y 32 injertos de tendones fijados con glutaraldehído (todos los extensores y flexores). La relación entre extensores y flexores fue de 56% (27/48) y 75% (42/56) respectivamente.

Pérdidas de volumen

No se hallaron restos de implante, en el momento de su sacrificio, en 19 rodillas (18%). La ausencia de tendón, en el momento de la artrotomía exploradora en el periodo estipulada, la hemos considerado como la *pérdida total de volumen del 100%* y lo diferenciamos de las *pérdidas parciales de volumen*, observadas en la medición del resto de los aloinjertos encontrados en el momento de la extracción. La relación extensores/flexores fue de 12/7.

Debemos destacar que no existió ninguna pérdida total de volumen (falta de restos tendinosos al efectuar la artrotomía para la extracción del injerto implantado) en los tendones tratados con glutaraldehído y que la pérdida parcial de volumen más baja (0,7%) también se encontró en las muestras de tendones fijados con glutaraldehído. La pérdida

Tabla IV: Aloinjertos tendinosos. Pérdidas de volumen 28%.

	IV Sem.	VIII Sem.	XII Sem.
Frescos ext.	26%	72%	87%
Frescos flex.	12%	28%	88%
Congel. ext.	1%	5%	54%
Congel. flex.	1%	3%	2%
Liofil. ext.	22%	78%	70%
Liofil. flex.	13%	48%	64%
Glutarald. ext.	0%	1%	1%
Glutarald. flex.	0%	1%	2%

de volumen (parcial o total) del implante no se ha considerado una complicación del estudio, sino una consecuencia del mismo. Así pues, ni la pérdida total (ni, lógicamente, la pérdida parcial) del volumen de un implante no son excluyentes del estudio y las hemos valorado con gran atención.

En los tendones frescos no se encontraron 9 de los 24 tendones implantados, lo que representa el 37% de pérdida (9% del total), siendo el grupo con un más alto índice. Los tendones liofilizados también presentaron un alto índice de desapariciones intraarticulares (33%), siendo un 8% del total; a diferencia de los tendones congelados que tuvieron una pérdida total de volumen del 8% (2% al compararlos con el resto). La medición macroscópica de los diámetros mayores del implante extraído demostró una pérdida de volumen del 28% del total de los tendones estudiados, valorándose las pérdidas totales como el 100%.

En la tabla IV se demuestra que con el tiempo aumenta la pérdida de volumen de los injertos en general (9% a las 4 semanas, 29% a las 8 semanas y 46% a las 12 semanas), aunque en los injertos conservados en solución de glutaraldehído no existe prácticamente pérdida ni, esta, es progresiva.

Hemos observado en este estudio una disminución del tamaño a la mitad, prácticamente, en los tendones implantados en fresco (51%) y los liofilizados (49%); frente a una pérdida de volumen casi nula en los tendones tratados con glutaraldehído (0,7%) y, relativamente discreta en los congelados (11%).

Así pues, se deduce que los tendones conservados en glutaraldehído son los que sufren una menor pérdida de masa y que esta pequeña disminución del volumen es constante a lo largo del estudio. Los tendones congelados mantienen una pérdida de masa moderada en las primeras semanas, pero

existe un incremento notable en la pérdida de volumen de las muestras a las 12 semanas (28%). Los tendones implantados en fresco sufren una progresiva e importante pérdida de volumen a lo largo del estudio, llegando hasta el 87% de disminución de sus diámetros. Los tendones liofilizados soportan una disminución importante hasta las 8 semanas, que se mantiene hasta finalizar el estudio; siendo el total de la pérdida similar a la de los tendones implantados en fresco.

Estudio de Microscópico

Tendones en frescos

El estudio histológico de los tendones transplantados en fresco demostró una marcada alteración histológica caracterizada por gran desestructuración del tejido fibrocolágeno y presencia de áreas de fibrosis. Estos cambios aparecían precozmente (estaban presentes en las muestras obtenidas a las 4 semanas) y se mantienen a lo largo de toda la duración del estudio. Existía infiltrado inflamatorio en la mayoría de las muestras con frecuencia de intensidad elevada (Fig. 1). La gran intensidad de las lesiones observadas impedía establecer diferencias entre tendones flexores y extensores.

Tendones liofilizados

El cambio histológico más llamativo en los tendones liofilizados era la pérdida de celularidad. El centro de las muestras quedaba convertido en una masa homogénea acelular hialina que podía demostrarse en las muestras obtenidas en la cuarta semana y se mantenía en muestras posteriores. En la periferia era también frecuente la presencia de membrana sinovial, siendo el tejido subsinovial el único punto con celularidad fusiforme conservada. A diferencia de lo observado en las muestras de los tendones frescos, el infiltrado inflamatorio es mínimo o inexistente (Fig. 2). No se apreciaban diferencias significativas en el aspecto histológico de los tendones flexores y extensores.

Tendones congelados

Los tendones congelados mostraban una cierta conservación de la estructura reconociéndose fácilmente la presencia de núcleos elongados (Fig. 3A). Se observaba revestimiento sinovial y una banda fusocelular subsinovial. El infiltrado inflamatorio era variable y, cuando era intenso, se acompañaba de fibrosis colágena. En muestras de larga evolución

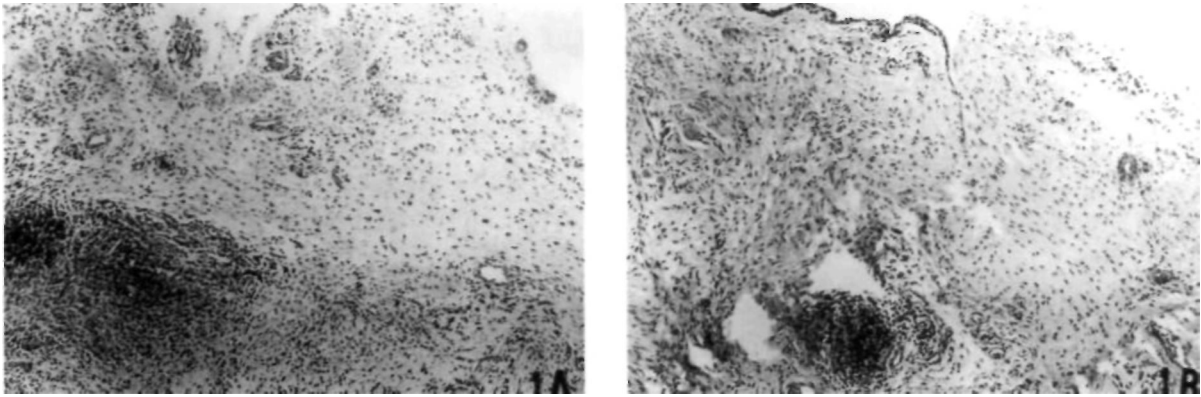


Figura 1. En las muestras de tendones frescos, se observa pérdida de polaridad celular con gran infiltrado inflamatorio. Nótese el revestimiento sinovial, A) tanto a las cuatro, B) como a las ocho semanas.

(Fig. 3C) se observaba homogenización hialina de la estructura tendinosa. Los cambios observados no permitían establecer diferencias entre tendones flexores y extensores.

Tendones fijados en glutaraldehído

Los tendones fijados en glutaraldehído presentaban una homogenización de la estructura, que adquiría un aspecto rojo brillante en la tinción con hematoxilina-eosina y en la que podían observarse normalmente restos de núcleos fusiformes (Fig. 4A). De nuevo existía sistemáticamente una membrana sinovial y una banda subsinovial de células fusiformes. El infiltrado inflamatorio observado fue mínimo. Tampoco existían diferencias significativas entre extensores y flexores. En las muestras que se mantuvieron más tiempo (hasta 32 semanas) no se observaron modificaciones importantes desde el punto de vista microscópico (Fig. 4C).

Miscelánea

Otros cambios histológicos observados incluían fibrosis, focos ocasionales de calcificación (especialmente en lesiones avanzadas), y en dos muestras, metaplasia condroide (ambas muestras se hallaron, al ser extraídas, adheridas a la cara externa del cóndilo femoral).

DISCUSIÓN

La valoración general de los resultados obtenidos, nos hace suponer la viabilidad de un proyecto de conservación de aloinjertos tendinosos; pues creemos que, igual que existen actualmente banco de huesos dotados a través de donantes multiorgánicos, podemos conseguir bancos de tendones, de ligamentos o de unidades hueso-tendón-hueso, que puedan paliar nuestras necesidades técnicas y evitar los problemas derivados de la obtención del autoinjerto.

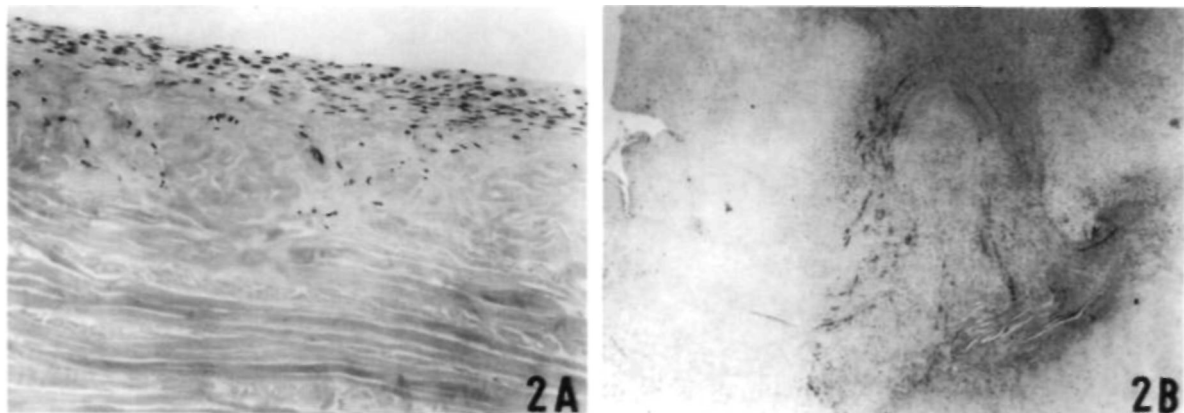


Figura 2. En la mayoría de los tendones flexores liofilizados, en las primeras semanas, se observa sustitución del tejido fibrocolágeno normal por una masa homogénea hialina. A) Nótese la presencia de revestimiento sinovial y de células fusiformes (probablemente fibroblastos) localizados a nivel subsinovial. B) En periodos más avanzados (tendón extensor liofilizado a las ocho semanas) suele existir sustitución masiva de la estructura por una masa esclerosa hialina.

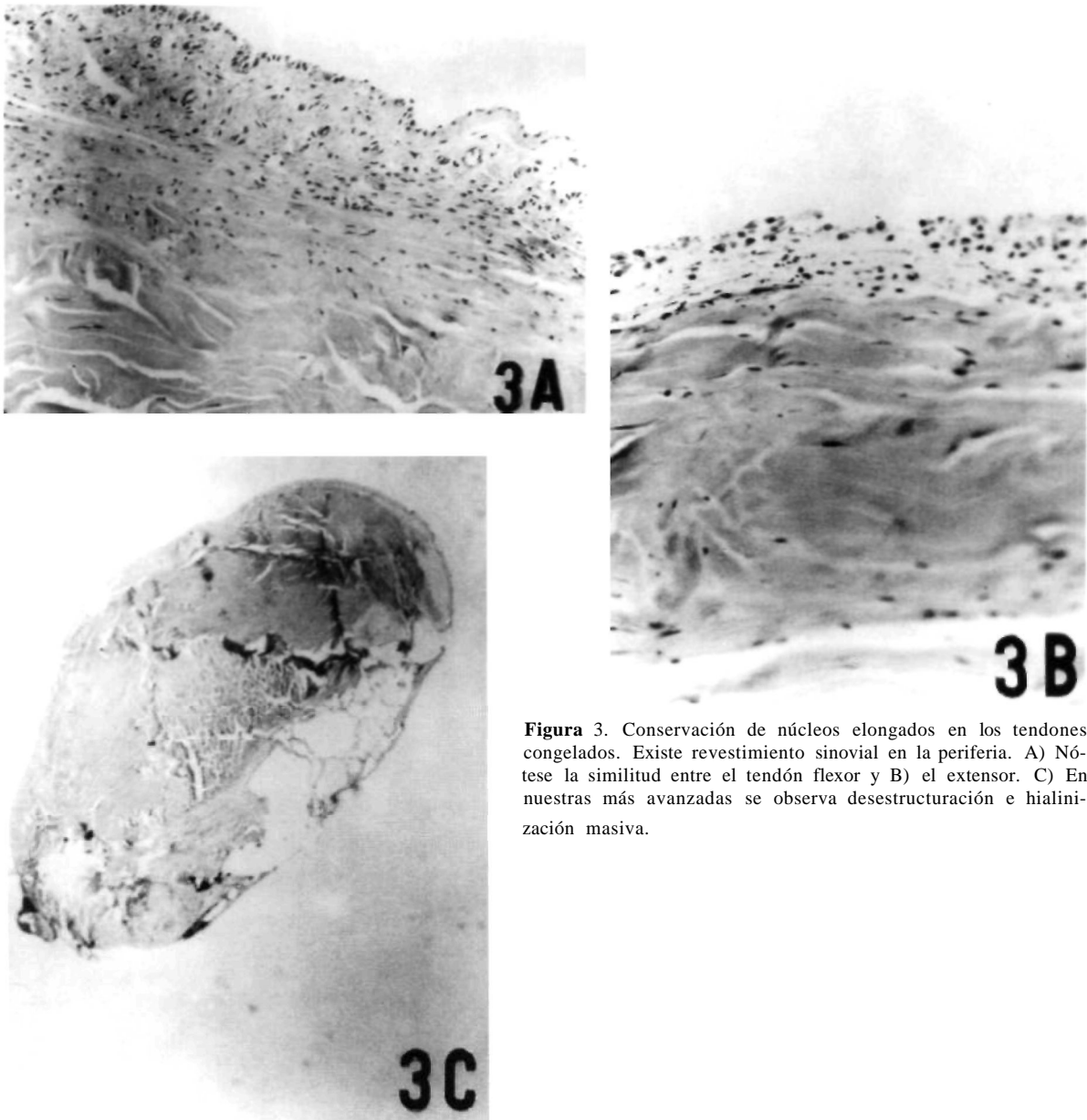


Figura 3. Conservación de núcleos elongados en los tendones congelados. Existe revestimiento sinovial en la periferia. A) Nótese la similitud entre el tendón flexor y B) el extensor. C) En nuestras más avanzadas se observa desestructuración e hialinización masiva.

Hay que tener en cuenta la importancia que tiene en la nutrición del ligamento cruzado anterior la difusión de nutrientes a partir del líquido sinovial. Amiel en 1987 (42) ya demostró que los nutrientes normalmente presentes en el líquido sinovial son utilizados por las células del tendón implantado intraarticular, por medio de la incorporación de Prolina tritiada.

En cuanto al mecanismo íntimo de proliferación celular en los injertos tendinosos, desde antiguo (43-47), la primera cuestión era establecer cuáles son los tejidos responsables de la cicatrización tendinosa. Se debía demostrar si eran las células del propio tendón las que experimentaban un

proceso de proliferación (28, 48-52) o bien si el protagonismo estaba en el paratendón y las vainas (53-70), que también experimentan un proceso de proliferación celular y de invasión tisular.

En 1962, Potenza (71) publicó un estudio experimental sobre la cicatrización tendinosa dentro de la vaina del flexor digital. El objetivo del mismo era intervenir en la polémica que se había creado en la discusión sobre cuál era el mecanismo de la cicatrización tendinosa.

Describió el proceso de cicatrización en la vaina del flexor digital tras una sección aséptica y una reparación atraumática. En estas condiciones sólo los tejidos de la vaina dan suficientes elementos de ci-

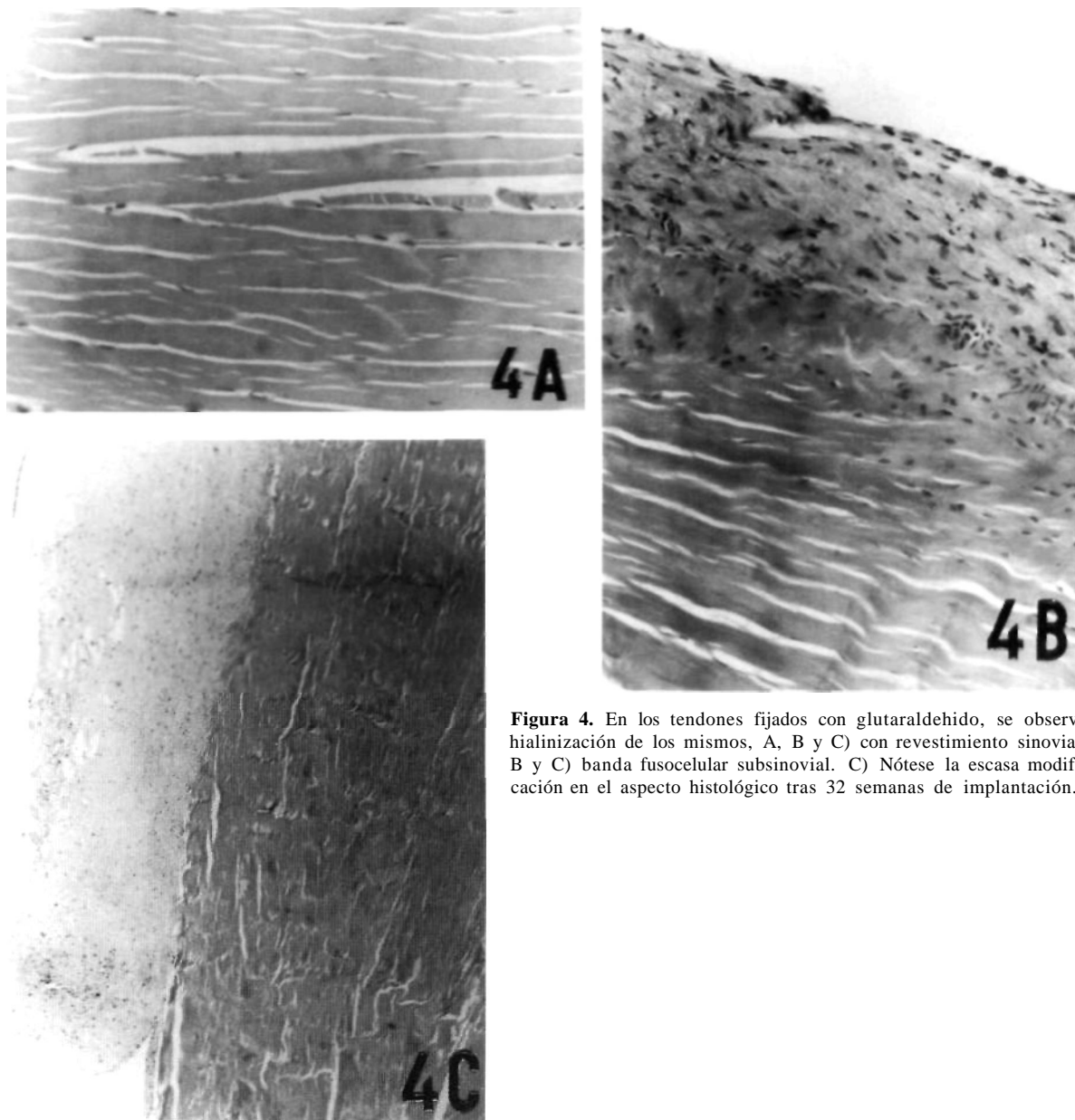


Figura 4. En los tendones fijados con glutaraldehído, se observa hialinización de los mismos, A, B y C) con revestimiento sinovial, B y C) banda fusocelular subsinovial. C) Nótese la escasa modificación en el aspecto histológico tras 32 semanas de implantación.

catrización del tendón flexor digital. El tendón se une por una cicatriz producida por fibroblastos derivados de la vaina. Estos fibroblastos producen colágeno que alrededor de los 128 días es indistinguible del colágeno del propio tendón. La nutrición de los fibroblastos provenía de la vaina y de los neovasos formados para nutrir la cicatriz.

Se había formado una vaina superficial lisa alrededor de cada injerto de forma parecida a la vaina que se forma sobre los implantes de silicona, extremo éste que nosotros hemos podido constatar experimentalmente.

Los trabajos de Shino (13-18) en el campo de los aloinjertos, han ampliado los horizontes en este

terreno. Su trabajo se basa en el uso de aloinjertos congelados. Sus estudios de seguimiento de aloinjertos a largo plazo, son de los más completos que se dispone. En este estudio vio que los aloinjertos congelados experimentan revascularización, infiltración por células mesenquimales y procesos de remodelación que son semejantes a los observados en tendones autólogos.

Así pues, una prótesis ligamentaria debe reunir las siguientes características:

- Ser compatible con los tejidos del huésped.
- Ser inmunológicamente neutro.

— Tener capacidad de resistir fuerzas de tensión y de transmitir las a través de su eje longitudinal sin interrupciones.

— Estimular la formación de una vaina lisa parecida a la sinovial que se genera a partir de los tejidos del huésped sin que se formen adhesiones que limiten su motilidad.

— Permitir la unión con los tejidos del huésped por medio de un proceso normal de cicatrización, sin presentar ningún problema insoluble en lo que a inserción ósea o a unión con un cabo tendinoso o ligamentario se refiere. Esto mismo se debe constatar en prótesis sintéticas o no biológicas.

En nuestra experiencia, el número total de infecciones fue de 15%, cifra aceptable en trabajos experimentales; pues comparando hallamos que Thorson et al (39) muestran cifras del 27% y en otro extremo, Shino et al (13, 18) presentan un total de infecciones del 3%. En un principio, el hecho de no hallar el injerto en la rodilla que estudiábamos, lo consideramos como una complicación. Posteriormente, hemos valorado el incidente como un resultado de importante valor significativo y no como una complicación. También debemos remontarnos al trabajo experimental de Thorson et al. (39) que manifiesta no haber encontrado restos del aloinjerto en la autopsia del 18% de los perros estudiados. Nuestra causística nos demostró que la pérdida total del tendón ocurrió en el 18%. En la revisión bibliografía de la literatura médica, no hemos hallado ningún trabajo experimental con aloinjertos tendinosos que compare las pérdidas parciales de volumen de las distintas muestras antes y después de su implantación; ni tampoco su relación con el tiempo. Creemos que es destacable el hecho de que, cuanto más tiempo permanece el aloinjerto en la rodilla, más posibilidades existen de menguar masa o, incluso, de no desaparecer totalmente.

Aunque desde el punto de vista histológico, las muestras de flexores no presentaban diferencias significativas con los extensores (dentro de los diferentes tipos de métodos de conservación), la valoración macroscópica sí demostró evidentes diferencias. Sobrevivieron al estudio sólo la mitad (56%) de los extensores, en contra del 75% de los flexores. En el apartado de infecciones, no hubo diferencias significativas, así como en las sinovitis no infecciosas. Donde se encontraron diferencias fue en la pérdida total de volumen (relación extensores/flexores: 12/7) y en el volumen promedio total perdido donde los flexores se sitúan en unas pérdidas del 35%

y los flexores en el 21%. La antigenicidad del injerto «in vitro» se reduce mediante el tratamiento con glutaraldehído, como demostró Slesinski (73), pues la estabilización con glutaraldehído satisface la mayoría de criterios para un injerto ideal.

Los estudios de la antigenicidad inmunológica en injertos tendinosos efectuados por Minami (37, 38), demostraron que dichos aloinjertos presentaban los antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad y que la antigenicidad se hallaba ligada a los componentes celulares del tendón (membrana celular) y no al colágeno. También se demostró, mediante el test de citotoxicidad aplicado a ratas que habían recibido aloinjertos conservados con diferentes métodos, que los injertos congelados y los conservados en paraformaldehído mantenían la respuesta inmunológica más baja. Por otro lado, los conservados en glutaraldehído, mitomicina C e irradiados con rayos X, mantenían respuesta inmunológica débil.

Estos estudios se deben contrastar con los efectuados por Thorson et al. (39), que demostraron el poco valor de estas pruebas, pues en un estudio experimental comparativo (injertos congelados versus autoinjertos) en perros encontró positivo el test de linfotoxicidad después de un mes en el 50% de los casos, sin hallar respuesta inmunitaria histológica en ninguno de ellos.

Martens (72) usó tendones de Aquiles, del tensor de la fascia lata o del tibial anterior procedentes de donantes multiorgánicos que fueron almacenados a -80 grados centígrados durante tres meses. En su estudio trató de determinar si había una respuesta inmunológica significativa en el uso de estos tendones.

Se observó aparición de anticuerpos anti HLA en el 50% de los pacientes aunque ninguno de ellos mostró evidencia clínica de rechazo. Posiblemente, estos trabajos nos indican que realmente existe una respuesta inmunológica a los implantes congelados y conservados en glutaraldehído, pero es débil y nos favorece. Queremos expresar que la reacción inflamatoria que se produce alrededor del tendón implantado, es aprovechada por éste para dotar a la estructura de colágeno o «andamio tendinoso» de un potencial celular fibroblástico que por metaplasia podría revitalizarlo utilizando conceptos de discusión de Potenza (64-68, 74) y Lundborg (55-60). Así pues, el aloinjerto actuaría como un andamio de baja inmunogenicidad de cara a inducir la producción de tejido ligamentario viable desde el huésped. Incluso los autoinjertos implantados como

sustitutos del ligamento cruzado anterior sufren una necrosis isquémica, posterior revascularización y consiguiente remodelación.

Otro aspecto de actualidad, por las graves consecuencias que conlleva, es la protección de los injertos frente al V.I.H., pues aunque se efectúan estudios biológicos del donante y el receptor, existe un período de latencia entre la contaminación y la aparición de anticuerpos frente al virus. Es conocida la labilidad del virus del S.I.D.A al glutaraldehído (74), pero no tanto a otros medios de conservación de tejidos como la congelación, la liofilización, etc. Creemos que un estudio comparativo puede ser fuente de una nueva línea de investigación en el futuro.

Con respecto a los autoinjertos, los aloinjertos presentan importantes ventajas. En ambos casos estamos usando material biológico para alcanzar el mismo objetivo, pero el uso de aloinjertos es mucho menos mutilante. Se acorta considerablemente el tiempo de intervención en los aloinjertos y se evitan las complicaciones que da el uso de autoinjertos, como pueden ser la tendinitis rotuliana, síndrome rotuliano y otros también se han descrito fracturas de rótula y rupturas del tendón rotuliano. El uso de aloinjertos, además, resulta en un acortamiento de los períodos de hospitalización y de rehabilitación. Está claro que hay una relación entre el tratamiento de conservación que se da al aloinjerto y el resultado final que obtenemos. El *glutaraldehído* ha demostrado ser el método de conservación más fácil de obtener, más barato en sus costes, de más elemental conservación e implantación inmediata y que, además de fijar y conservar el injerto, lo esteriliza. Los trabajos de McMaster (24-27) sobre xenoinjertos y aloinjertos esterilizados, fijados y conservados en glutaraldehído han sido pioneros en este campo.

En cuanto al porcentaje de la solución, como la mayoría de autores (24, 26, 30), la hemos mantenido a una concentración de glutaraldehído del 0,2%, tamponado para obtener un pH de 7,4.

Se ha demostrado (Broom y Thomson) (21) que si la presión, durante la fijación del tendón en glutaraldehído, sube tan sólo 4 mm. Hg, la estructura colágena fallará por la presencia de puntos débiles de desgaste en la misma.

Dados los buenos resultados histológicos obtenidos a 4, 8 y 12 semanas con los tendones fijados en glutaraldehído y el hecho de no observar sinovitis inflamatorias ni infecciosas, decidimos ampliar el plazo de estudio de flexores estabilizados en di-

cha sustancia. Contrastando los resultados de Shahgaldi, que en un trabajo que publicó en 1991 (29) utilizaba xenoinjertos meniscales, osteocondrales y costales bovinos fijados en glutaraldehído en una solución acuosa al 1%, neutralizada a un pH de 7,4 y en donde relataba que, a partir de los seis meses, se iniciaba una degeneración de los injertos que se implantaron en las rodillas de 19 cabras; debemos decir que en nuestro estudio no se ha mantenido esta evolución, pues las muestras histológicas se han mostrado uniformes a lo largo de todo el tiempo, en cuanto a su aspecto estructural. Por otro lado, no hemos observado un aumento progresivo importante del número de núcleos fusiformes en el tiempo, pues la progresión de recelularización ha sido lenta.

La valoración de las diferentes preparaciones estudiadas de tendones mantenidos en glutaraldehído, han coincidido plenamente con las observadas por McMaster (24-27) Smith (30). La iconografía mostrada por ellos, es superponible a la que hemos obtenido (membrana sinovial con banda subsinovial de células fusiformes, con aparición progresiva hacia la zona central de núcleos elongados.)

También coincidimos con Smith (30) al afirmar que la membrana sinovial, que recubre todo el injerto, se adelgaza hasta la mitad a partir de las 20 semanas aproximadamente. Quizá lo destacable, desde el punto de vista histológico, en las muestras de tendones fijados en glutaraldehído sea la uniformidad de estructura de las muestras y que ésta no se alteró con el tiempo; lo que nos podría sugerir que el «andamio» estructural se mantiene perfectamente para poder ser recelularizado lentamente (posiblemente menos rápido que en la estructura congelada, aunque en ésta se altera algo más su estructura colágena).

La relación de sinovitis inflamatoria es la más baja (2%) comparada con el resto de tendones (congelados: 8%, liofilizados: 5% y frescos: 3%). La sinovitis de repetición que relata Alien (20), posiblemente, se manifestaron más por un problema mecánico que por una reacción inmunitaria.

Es destacable el hecho de que los tendones mantenidos en glutaraldehído, no han sufrido ninguna infección (igual que en los tendones congelados) y que no ha habido ninguna pérdida total de volumen (en las muestras de tendones congelados han desaparecido dos) siendo el total del volumen disminuido el 0,7% (el menor, con mucho, de todos los grupos); llegando al final del estudio el 100% de las muestras.

Así mismo, debemos valorar la facilidad de conservación de estos aloinjertos, pues los tendones estabilizados en glutaraldehído se mantienen a temperatura ambiente y pueden usarse en el momento en que el cirujano lo desee, pues solo precisan seguir un fácil protocolo de lavados con suero fisiológico (21, 22, 24, 29).

Valorando los múltiples trabajos sobre la aplicación de *injertos congelados* y los buenos resultados obtenidos, tanto experimentales (13) como clínicos (16-18), debemos considerar la congelación como un buen método de conservación de injertos tendinosos. En nuestra experiencia, la supervivencia de tendones congelados ha sido buena, llegando al final del estudio el 92%.

Al igual que en el caso de los tendones conservados en glutaraldehído, no hemos encontrado ninguna infección articular en la implantación de tendones congelados. Es notorio, en cambio, que el índice más elevado de sinovitis no infecciosa, se ha producido en las rodillas con estos implantes.

La valoración histológica ha sido también muy buena, pues los tendones congelados, al igual que los fijados en glutaraldehído, han mantenido su estructura en condiciones muy aceptables. Desde un punto de vista cuantitativo, es evidente la mayor cantidad de núcleos fusiformes hallados en los tendones congelados, que en los mantenidos en solución de glutaraldehído.

Todo ello nos puede llevar a una posible conclusión, que demostraría que los tendones conservados congelados se «recelularizan» mejor que los conservados en glutaraldehído; pero estos últimos mantendrían más estable su estructura («andamiaje») en el tiempo, tardando más en «recelularizarse». Creemos que ambos tipos de aloinjertos son utilizables.

Los injertos tratados con glutaraldehído estabilizan el colágeno mediante formación de enlaces cruzados covalentes a lo largo de los grupos de aminolisina (30). La temperatura, el pH, la presión (22) y la concentración del aldehído son variantes importantes del grado de enlace cruzado y que éste afecta la duración y rigidez del implante. También se conoce, popularmente, que la congelación y descongelación de los cefalópodos, ablanda su estructura. Valorando los resultados obtenidos, se podría abrir otra nueva línea de investigación al comparar la estructura colágena de ambos tendones (congelados y estabilizados en glutaraldehído), para valorar la flexibilidad, resistencia y duración de las mismas.

La valoración de los *aloinjertos frescos* es deficiente, pues la reacción inmunológica es tan agresiva que llega a desestructurar totalmente el tejido fibrocolágeno, que no permite identificarlo en muchas áreas como a un tendón. Ello es evidente, además, por otros signos característicos como son el hecho de que presentan un 29% de infecciones, un 37% de desapariciones de la cavidad sinovial (no llegando ningún injerto al final del estudio) y una pérdida de más del 50% de su volumen.

Cifras bastantes similares hallamos en los *tendones liofilizados*, pues sólo hemos podido estudiar siete (29%) muestras porque se han infectado nueve (37%), han desaparecido ocho (33%). El estudio histológico muestra una masa homogénea acelular difícilmente identificable como estructura tendinosa.

Coincidimos con Nasca (7), que no recomienda el uso de tendones liofilizados y nos sorprendemos del estudio comparativo entre tendones congelados y liofilizados de Indelicato (6), que no halla diferencia entre los dos tipos de conservación, valorando los resultados de excelentes.

CONCLUSIONES

De las conclusiones de este trabajo experimental destacamos las siguientes: No se han hallado restos de aloinjerto en 19 casos, lo que representa el 18% del total. Existe una relación, estadísticamente significativa, entre el método de conservación y el hecho de no hallar restos del injerto en el momento de su examen; y entre la falta de restos y el tiempo transcurrido. Todas las muestras de tendones conservados en glutaraldehído han llegado al final de los distintos períodos estipulados. Cuanto más tiempo transcurre, menor es la posibilidad de hallar el injerto en la articulación. Ha existido una pérdida de volumen, en el momento final de extracción de los injertos, del 28%.

Existe una relación, estadísticamente significativa, entre el método de conservación y la pérdida de volumen; y entre la pérdida de volumen y el tiempo en que se mantiene el tendón en la rodilla. Los tendones conservados en glutaraldehído son los que pierden menos volumen. Cuanto más tiempo se mantienen los injertos en la cavidad sinovial, más porcentaje de masa pierden.

Existe una relación, significativamente estadística, entre la tasa de infección y el método de conservación de los aloinjertos. Los tendones implantados

en fresco y los liofilizados, tienen mayor posibilidad de infectarse.

Siguiendo la valoración con estos parámetros, los aloinjertos conservados en glutaraldehído y los congelados son los que han dado mejor resultado.

También según valoración con los mismos parámetros, los tendones flexores han demostrado comportarse mejor que los extensores.

Histológicamente, se ha observado:

— Que los tendones implantados en fresco desencadenan una mayor respuesta inflamatoria.

— Que los tendones implantados en fresco y los liofilizados, son los que se muestran más alterados, aunque la reacción inflamatoria es menor en los liofilizados.

— Que los tendones congelados y fijados en glutaraldehído presentan menor fibrosis y reacción inflamatoria. Parece observarse mayor número de núcleos celulares en los congelados.

— Que, aunque los resultados macroscópicos muestran lo contrario, los resultados microscópicos no han demostrado diferencias significativas entre extensores y flexores.

Bibliografía

1. **Hey Groves EW.** The cruciate ligaments of the knee joint, their function, rupture and the operative technique of the same. *Br J Surg* 1920; 7: 505-15.
2. **Cameron RR, Conrad RN, Sell KW, Latham WD.** Freeze-Dried composite tendon allografts: an experimental study. *Plast Reconstr Surg* 1971; 47: 39-46.
3. **Curtis RJ, DeLee JC, Drez DJ.** Reconstruction of the Anterior Cruciate Ligament with freeze-dried fascia lata allograft in dogs. A preliminary report. *Am J Sports Med* 1985; 13: 408-14.
4. **Flynn JE, Graham JH.** Healing following tendon suture and tendon transplants. *Surg Gynecol Obstet* 1962; 115: 467-72.
5. **Flynn JE, Graham JH.** Lyophilized Heterogenous and Autogenous Tendon Transplants. *Surg Gynecol Obstet* 1963; 116: 345-50.
6. **Indelicato FA, Bittar ES, Prevot TJ, Woods GA, Branch TP, Huegel M.** Clinical comparison of freeze-dried and fresh frozen patellar tendon allografts for anterior cruciate ligament reconstruction of the knee. *Am J Sports Med* 1990; 18: 335-42.
7. **Nasca RJ.** The Use of Freeze-dried Allografts in the Management of Global Rotator Cuf Tears. *Clin Orthop* 1988; 228: 218-25.
8. **Webster DA, Weber FW.** Mechanical and Functional Properties of Implanted Freeze-Dried Flexor Tendon. *Clin Orthop* 1983; 180: 301-9.
9. **Webster DA, Weber FW.** Freeze-Dried Flexor Tendon in Anterior Cruciate Ligament Reconstruction. *Clin Orthop* 1983; 181: 238-43.
10. **Horibe S, Shino K, Taga I, Inoue M, Ono K.** Reconstruction of lateral ligaments of the ankle with allogeneic tendon grafts. *J Bone Joint Surg* 1991; 73B: 802-5.
11. **Sanchis Alfonso V, Gomar Sancho F.** Sustitución del ligamento cruzado anterior mediante aloinjertos tendinosos criopreservados. I: Comportamiento biológico del implante a nivel intra-articular. Estudio experimental. *Rev Ortop Traum* 1993; 37 IB: 87-97.
12. **Sanchis Alfonso V, Gomar Sancho F.** Sustitución del ligamento cruzado anterior mediante aloinjertos tendinosos criopreservados. II: Comportamiento del implante a nivel del túnel óseo. Estudio experimental. *Rev Ortop Traum* 1993; 37 IB: 98-103.
13. **Shino K, Kawasaki T, Hirose H, Gotoh I, Inoue M, Ono K.** Replacement of the Anterior Cruciate Ligament by an allogeneic tendon graft. An experimental study in the dog. *J Bone Joint Surg* 1984; 66B: 672-81.
14. **Shino K, Kimura T, Hirose H, Gotoh I, Inoue M, Ono K.** Reconstruction of the Anterior Cruciate Ligament of allogeneic tendon graft. An operation for chronic ligamentous insufficiency. *J Bone Joint Surg* 1986; 68B: 739-46.
15. **Shino K, Inoue M, Nagano J, Ono K.** Maturation of allograft tendons transplanted into the knee. *J Bone Joint Surg* 1988; 70B: 556-60.
16. **Sino K, Inoue M, Nakamura H, Hamada M, Ono K.** Arthroscopic Follow-up of Anterior Cruciate Ligament Reconstruction Using Allogeneic Tendon. *Arthroscopy* 1989; 5: 165-71.
17. **Shino K, Inoue M, Horibe S, Hamada M, Ono K.** Reconstruction of the anterior cruciate ligament using allogeneic tendon. Long-term followup. *Am J Sports Med* 1990; 18: 457-65.
18. **Shino K, Horibe S.** Experimental Ligament Reconstruction by Allogeneic Graft in a Canine Model. *Acta Orthop Belg* 1991; 57 Suppl II: 44-53.
19. **Thiery J.** Ligamentoplastie palliative mixte intra-et-extra-articulaire par allogreffe dans les laxité antérieures chroniques du genou (note technique). *Acta Orthop Belg* 1991; 57 Suppl II: 61-65.
20. **Allen PR, Amis AA, Jones MM, Heatley FW.** Evaluation of preserved bovine tendon xenografts: a histological, biomechanical and clinical study. *Biomaterial* 1987; 8: 146-52.
21. **Benazet JP, Saillant G, Roy-Camille R.** Le remplacement prothétique du ligament croisé antérieur. Etude expérimentale. *J Med Leon* 1985; 66: 463-9.
22. **Broom ND, Thomson FJ.** Influence of fixation conditions on the performance of glutaraldehyde-treated porcine aortic valves: towards a more scientific basis. *Thorax* 1979; 34: 166-76.
23. **Ferrans VJ, Spray TC, Billingham ME, Roberts WC.** Structural Changes in Glutaraldehyde-Treated porcine Heterografts Used as Substitute Cardiac Valves. *Am J Cardiol* 1978; 41: 1159-84.

24. **McMaster WC, Kouzelos J, Liddle S, Waugh TR.** Tendon Crafting with Glutaraldehyde Fixed Material. *J Biomed Mater Res* 1976; 10:259-71.
25. **McMaster WC.** Bovine Xenograft Collateral Ligament Replacement in the Dog. *J Orthop Res* 1985; 3: 492-8.
26. **McMaster WC.** A histologic assessment of canine anterior cruciate substitution with bovine xenograft. *Clin Orthop* 1985; 196-196-201.
27. **McMaster WC.** Mechanical Properties and Early Clinical Experience with Xenograft Biomaterial. *Bull Hosp Jt Dis Orthop Inst* 1986; 6: 174-83.
28. **Migliavacca A.** Sull rigenerazione die tendini. *Boll Soc Med chir Pavia* 1925; 38: 903-5.
29. **Shahgaldi BE, Amis AA, Healtey FW, McDowell J, Bentley C.** Repair of cartilage lesions using biological implants. *J Bone Joint Surg* 1991; 73B: 57-64.
30. **Smith DJ, Jones CS, Hull M, Kelinert HE.** Evaluation of Glutaraldehyde- Treated Tendon Xenograft. *J Hand Surg (Am)* 1986; 11: 97-106.
31. **Gibbons MJ, Butler DJ, Grood ES, Bylski-Austrow DI, Levy MS, Noyes FR.** Effects of Gamma Irradiation on the Initial Mechanical and Material Properties of Goat Bone-Patellar Tendon-Bone Allografts. *J Orthop Res* 1991; 9: 209-18.
32. **Timashevich KD, Dadashev CD.** Transplantation of tendons sterilized in formalin vapours and preserved in paraffin oil. *Acta Chir Plast* 1975; 17:212-8.
33. **Jackson DW, Windier GE, Simon TM.** Intraarticular reaction associated with the use of freeze-dried, ethylene oxide-sterilized bone-patella tendon-bone allografts in the reconstruction of the anterior cruciate ligament. *Am J Sports Med* 1990; 18: 1-11.
34. **Roberts TS, Drez D, McCarthy W, Paine R.** Anterior cruciate ligament reconstruction using freeze-dried ethylene oxide-sterilized, bone-patellar tendon-bone allografts. Two year results in thirty-six patients. *Am J Sport Med* 1991; 19: 35-41.
35. **Iselin M, de la Plaza R, Flores A.** Surgical Use of Homologus Tendon Graft preserved in Cialid. *Plast Reconstr Surg* 1963; 32: 401-3.
36. **Arnauw G, Verdonk R, Harth A, Moerman J, Vorlat P, Balaille F, Claessens H.** Prosthetic versus tendon allograft replacement of ACL-deficient knees. *Acta Orthop Belg* 1991; 57, Suppl II: 67-74.
37. **Minami A, Ishii S, Ogino T, Oikawa T, Kobayashi II.** Effect of the Immunological Antigenicity of the Allogeneic Tendons on Tendon Grafting. *J Hand Surg (Br)* 1982; 14: 111-9.
38. **Minami A, Usui M, Ishii s, Kobayashi H.** The in vivo effects of various immunoreactive treatments on allogeneic tendon grafts. *J Hand Surg (Am)* 1983; 8: 888-93.
39. **Thorson E, Rodrigo JJ, Vasseur P, Sharkey N, Heitter D.** Replacement of the anterior cruciate ligament. A comparison of autografts and allografts in dogs. *Acta Orthop Scand* 1989; 60: 555-60.
40. **Zoltan DJ, Reinecke C, Indicato PA.** Synthetic and Allograft Anterior Cruciate Ligament Reconstruction. *Clin Sports Med* 1988; 7: 773-84.
41. **Navarro Quilis A.** Inestabilidad Ligamentosa de la rodilla. Ponencia Oficial del XXI Congreso Nacional de la S.E.C.O.T. Madrid: Ed. Garsi, 1983.
42. **Amiel D, Akeson WH, Renzoni S et al.** Nutrition of anterior cruciate ligament reconstruction by diffusion. Collagen synthesis studied in rabbits. *Acta Orthop Scand* 1986; 57: 201-3.
43. **Adams W.** *En the Reparative Process in Human Tendons After Subcutaneous Division of the Cure of Deformities.* London: Ed. John Churchill, 1960.
44. **Beltzow A.** Untersuchungen über Entwicklung und Regeneration der Sehnen. *Archiv Mikrosk Anat* 1883; 22: 714-6.
45. **Busse O.** Untersuchungen der feineren Vorgänge bei der Heilung von Sehnenwunden. *Dtsch Zeitschr Chi* 1892; 33: 30-3.
46. **Rehn E.** Zur den Fragen der Transplantation, Regeneration und Ortseinsetzenden funktionellen Metaplasie. *Archiv Klin Chir* 1919; 112: 662-79.
47. **Viering W.** Experimentelle Untersuchung über die Regeneration des sehngewebes. *Archiv Pathol Anat* 1891; 125: 252-73.
48. **Enderlen A.** Ueber Sehnenregeneration. *Archiv Klin Chir* 1893; 46: 563-70.
49. **Imayoshi M.** Experimentelle Untersuchungen über Sehnenregeneration unter Anwendung der vitalen Carminispeicherungsmethode nach Kiyono. *Archiv Klin Chir* 1925; 137: 143-6.
50. **Mason ML, Allen HS.** The Rate of healing of tendons. *Ann Surg* 1941; 113: 424-7.
51. **Peer LA.** *Transplantation of Tissues.* Vol. I Baltimore Ed Willams and Wilkins Company 1955.
52. **Seggel R.** Histologische Untersuchungen über die Heilung von Sehnenwunden und Sehnendefekten. *Beitr Klin Chir* 1903; 37: 342-5.
53. **Eiken O, Lundborg G, Rank F.** The Role of the Digital Synovial Sheath in Tendon Grafting. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1975; 9: 182-9.
54. **Eiken O, Lundborg G.** Experimental tendon grafting within intact tendon sheath. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1983; 17: 127-31.
55. **Lundborg G.** Experimental Flexor Tendon Healing without Adhesion Formation. A New Concept of Tendon Nutrition and Intrinsic Healing Mechanism. *J Hand Surg (Br)* 1976; 8: 235-8.
56. **Lundborg G, Myrhage R, Rydevik B.** The Vasculature of human flexor tendons within the digital synovial sheath region. Structural and functional aspects. *J Hand Surg (Am)* 1977; 2: 417-27.
57. **Lundborg G, Rank F.** Experimental studies on cellular mechanisms involved in healing of animal and human flexor tendon in synovial environment. *J Hand Surg (Br)* 1980; 12: 3-11.
58. **Lundborg G, Hansson HA, Rank F, Rydevik B.** Superficial repair of severed flexor tendons in synovial environment. An experimental ultrastructural study on cellular mechanism. *J Hand Surg (Am)* 1980; 5: 451-61.
59. **Lundborg G, Holm S, Myrhage R.** The Role of the Synovial Fluid and Tendon Sheath for Flexor Tendon Nutrition. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1980; 14: 99-107.
60. **Lundborg G, Rank F, Heinau B.** Intrinsic Tendon Healing. A New Experimental Model. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1985; 19: 113-17.
61. **Neuhof H.** *The Transplantation of Tissues.* New York: Ed D Appleton and Co 1923.
62. **Peacock EE.** Morphology of Homologus and Heterologus Tendon Grafts. *Surg Gynecol Obstetr* 1959; 106: 735-42.

63. **Peacock EE, Petty J.** Antigenicity of Tendon. *Surg Gynecol Obstetr* 1960; 110: 187-91.
64. **Potenza AD.** The Healing of Autogenous Tendon Graft within the Flexor Digital Sheath in Dogs. *J Bone Joint Surg* 1964; 46A: 1462-84.
65. **Potenza AD.** Healing and Fate of Lyophilized Homologous Flexor Tendon Grafts within the Digital Sheath. *J Bone Joint Surg* 1964; 46A: 908-9.
66. **Potenza AD, Melone C.** Evaluation of the freeze-dried flexor tendon grafts in dog. *J Hand Surg (Am)* 1978; 3: 157-62.
67. **Potenza AD.** Tendon and Ligament Healing. En: Owen R, Godfellow J, Bullough P. *Scientific Foundations of Orthopaedics and Traumatology*. London: William Heinemann Medical Book Limited, 1980.
68. **Potenza AD, Herte MC.** The synovial cavity as a «tissue culture in situ». *Science of nonsense? J Hand Surg (Am)* 1982; 7: 196-200.
69. **Skoog T, Persson BH.** An Experimental Study of the Early Healing of Tendons. *Plast Reconstr Surg* 1954; 13: 384-9.
70. **Teneff S, Fonda G.** Innessi auto-omo-ed eteroplastici di tendini congelato. *Minerva Ortop* 1953; 4: 65-71.
71. **Potenza AD.** Tendon healing within the flexor digital sheath in dogs. A experimental study. *J Bone Joint Surg* 1962; 44A: 49-64.
72. **Martens M et al.** Preliminary Report on the Use of Tendon Allografts in Chronic Knee Instability. *Acta Orthop Belg* 1991; 57, Suppl. II: 66.
73. **Slesinski RS, Hengler WC, Guzzie PJ, Wagner KJ.** Mutagenicity evaluation of Glutaraldehyde in a Battery of in vitro Bacterial and Mammalian Systems. *Fd Chem Toxic* 1983; 21: 621-9.
74. **Department de Sanitat i Seguretat Social de la Generalitat de Catalunya.** La infecció pel virus de la Immunodeficiencia Humana (HIV) en el medi sanitari. 1ª ed. Barcelona 1991: 71-3.