

Comportamiento Biológico de Aloinjertos Tendinosos Intraarticulares.

A. LOPEZ ALONSO, L. DIAZ FLORES, F. MANDIA MANCEBO, R. GUITIERREZ y
A. AZNAR AZNAR.

*Facultad de Medicina de Alcalá de Henares. Cátedra de Traumatología.
(Prof. A. López Alonso).*

*Facultad de Medicina "La Laguna". Cátedra de Anatomía Patológica.
(Prof. L. Díaz Flores).*

Resumen.— En el presente trabajo, los autores han efectuado un estudio experimental de la respuesta biológica de aloinjertos tendinosos, implantados en el interior de la articulación de la rodilla.

Se ha seguido mediante microscopía óptica y microscopía electrónica, la revascularización de los implantes y los cambios tendinosos intrínsecos, tanto en la serie de aloinjertos en "fresco", como de aloinjertos congelados.

En los aloinjertos en fresco, predomina la intensa respuesta inflamatoria -inmunitaria, siendo la respuesta reparadora de escasos signos de orientación del tejido fibroso definitivo. En la serie de injertos congelados, los fenómenos inflamatorios son escasos, predominando la angiogénesis.

Descriptores: Aloinjerto tendinoso. Aloinjertos congelados y no congelados. Estudio histológico ultraestructural.

Summary.— **In this paper, the authors have studied the biological response of tendinous allografts, implanted inside the knee articulation, in a experimental study.**

The revascularization of the grafts, and the intrinsic tendinous changes in both series, frozen and no frozen allografts, is studied with optical and electron microscopy.

In the no frozen allografts, is more important the intensive inflammatory immunitary response, with few signs of orientation of the definitive fibrous tissue. In the serie of frozen allografts, the inflamatory response is limited with predominance of the angiogenesis process.

Key Words: Tendinosus Allograft. Frozen Allograft. Histological Study.

INTRODUCCIÓN

Entre los diferentes tipos de lesión ligamentosa de la rodilla, la afectación del ligamento cruzado anterior (LCA), predomina por su frecuencia sobre el resto.

Debido al bajo porcentaje de éxitos obtenidos en la reparación primaria de este ligamento y a los signi-

ficativos problemas de la inestabilidad crónica consecuente, se han realizado, en un intento de lograr mejores resultados, numerosos procedimientos quirúrgicos, entre los que están aquellos que emplean tejidos tendinosos del propio individuo (tendón rotuliano, recto interno, semitendinoso, banda ileotibial, etc.).

El empleo de aloinjertos tendinosos ha tenido contadísimas experiencias clínicas, no así en el campo experimental, cuyo comportamiento biológico ha sido estudiado.

En la reparación del LCA, se deben tener en

Correspondencia:

ANTONIO LÓPEZ ALONSO.
Juan Bautista de Toledo, 6- 3ªA.
28002 Madrid.

ALOINJERTO TENDINOSO EN FRESCO

Nº Rala	Nº Orden	F.Interv.	F. Extrac.	Días evol.	Técnica
1	1	15-1-87	16-1-87	1	M.O.
2	4	3-2-87	5-2-87	2	M.O.
3	6	6-2-87	9-2-87	3	M.E.
4	12	11-3-87	15-3-87	4	M.E.
5	20	7-4-87	12-4-87	5	M.O.
6	25	29-4-87	5-5-87	6	M.O.
7	29	13-5-87	20-5-87	7	M.E.
8	33	25-5-87	2-6-87	8	M.E.
9	35	28-5-87	6-6-87	9	M.O.
10	37	2-6-87	12-6-87	10	M.E.
11	39	5-6-87	16-6-87	11	M.E.
12	41	10-6-87	22-6-87	12	M.O.
13	55	22-9-87	4-8-87	13	M.O.
14	58	30-9-87	15-8-87	14	M.E.
15	61	7-10-87	23-8-87	15	M.O.
16	64	20-10-87	5-11-87	16	M.O.
17	71	4-11-87	21-11-87	17	M.O.
18	77	17-11-87	5-11-87	18	M.E.
19	80	25-11-87	14-12-87	19	M.E.
20	83	2-11-87	22-12-87	20	M.O.
21	84	4-12-87	25-12-87	21	M.O.
22	91	21-1-88	12-2-88	22	M.O.
23	96	2-2-88	25-2-88	23	M.O.
24	97	5-2-88	29-2-88	24	M.E.
25	108	8-3-88	2-4-88	25	M.E.
26	109	10-3-88	5-4-88	26	M.O.
27	114	28-3-88	16-4-88	27	M.O.
28	116	5-4-88	3-5-88	28	M.O.
29	127	11-5-88	9-6-88	30	M.O.
30	147	7-11-88	7-10-88	30	M.O.

Tabla I:

cuenta, criterios de tipo anatómico, biomecánico y biológicos, entre estos últimos, destacan los problemas de neovascularización del injerto.

En el presente trabajo experimental hemos estudiado mediante microscopía óptica y electrónica, la respuesta biológica tras la implantación de un tendón de otro animal de la misma especie, en la cavidad articular de la rodilla.

El estudio se ha realizado haciendo abstracción de consideraciones biomecánicas.

MATERIAL Y MÉTODO

Se han utilizado 120 ratas sprague-Dawley con pesos comprendidos entre 250 y 350 gr. y sin distinción de sexos, divididas en dos series homogéneas de 60 ratas cada una, de las que 30 se utilizaron como donantes y 30 como receptores.

SERIE I. ALOINJERTO TENDINOSO EN FRESCO.

Las ratas se anestesiaban de dos en dos, mediante inyección intraperitoneal de Ketamina a la dosis de 15 mg/Kg, lográndose una rápida anestesia.

Uno de los animales se coloca en decúbito supino fijando todas sus extremidades con la que vamos a operar en discreta flexión. Se prepara la piel con solución antiséptica, abordando por vía medial, la rodilla. Tras seccionar la cápsula y la sinovial, se alcanza el fondo de saco suprarrotuliano.

En la otra rata, anestesiada simultáneamente con la anterior, se aborda el tendón de Aquiles por la cara posterointerna de la extremidad inferior, extrayéndose una franja tendinosa de aproximadamente 0.6 x 0.3 x 0.3 cm. Esta cinta tendinosa, se introduce en la cavidad articular de la otra rata, y concretamente en el fondo de saco suprarrotuliano.

Las ratas se sacrifican entre los días 1 y 30 de evolución para su estudio por M.O. y M.E. (véase tabla I). En el momento del sacrificio se obtiene el material implantado. Las piezas obtenidas para M.O. se fijan en formol al 10%. Los cortes histológicos, se tiñen con Hematoxilina-Eosina, Tricrómico de Masson-Goldner y PAS. Para su estudio ultraestructural, los fragmentos se fijan previamente en glutaraldehído tamponado al 2%, a pH 7.3, y a continuación se realiza postfijación con tetróxido de osmio al 1%, deshidratación en acetonas crecientes e inclusión en epoxiresinas. Los cortes semifinos se tiñen con azul de Toluidina, y los ultrafinos con lactato de uranyl-magnesio y citrato de plomo.

ALOINJERTO TENDINOSO CONGELADO

Nº Rata	Nº Orden	F. Interv.	F. Extrac.	Días Evol.	Técnica
1	9	23-2-87	24-2-87	1	M.O.
2	14	16-3-87	18-3-87	2	M.O.
3	19	3-4-87	6-4-87	3	M.E.
4	30	18-5-87	22-5-87	4	M.E.
5	38	3-6-87	8-6-87	5	M.O.
6	54	21-9-87	27-9-87	6	M.E.
7	56	24-9-87	1-10-87	7	M.E.
8	60	5-10-87	13-10-87	8	M.O.
9	63	15-10-87	24-10-87	9	M.E.
10	74	9-11-87	19-11-87	10	M.O.
11	76	13-11-87	24-11-87	11	M.E.
12	82	1-12-87	13-12-87	12	M.O.
13	93	26-1-88	8-2-88	13	M.O.
14	94	28-1-88	11-2-88	14	M.O.
15	102	23-2-88	10-3-88	15	M.E.
16	105	29-2-88	16-3-88	16	M.O.
17	110	15-3-88	1-4-88	17	M.E.
18	118	14-4-88	2-5-88	18	M.E.
19	122	25-4-88	14-5-88	19	M.O.
20	124	28-4-88	18-5-88	20	M.O.
21	125	3-5-88	24-5-88	21	M.E.
22	131	24-5-88	15-6-88	22	M.O.
23	133	27-5-88	19-6-88	23	M.E.
24	136	7-6-88	1-7-88	24	M.O.
25	137	9-6-88	2-7-88	25	M.O.
26	152	20-9-88	16-10-88	26	M.O.
27	158	7-10-88	2-11-88	27	M.O.
28	163	26-10-88	23-11-88	28	M.E.
29	167	8-11-88	7-12-88	29	M.O.
30	169	10-11-88	10-12-88	30	M.O.

Tabla II:

SERIE II. ALOINJERTO TENDINOSO CONGELADO INTRAARTICULAR.

Los segmentos tendinosos a utilizar en el implante se obtienen de los tendones rotulianos y aquileos de las ratas donantes, para una vez inmersos en suero Ringer-Lactato, ser congelados a -70°C donde se mantienen durante un período comprendido entre 7 y 35 días. Para su uso, se descongelan a temperatura ambiente e introducen en el fondo de saco suprarrotuliano, con la misma técnica que en la serie anterior. El número de animales y tiempo de evolución para cada uno de ellos, queda reflejado en la tabla II.

La metodología de estudio de las piezas obtenidas para M.O. y M.E., son las expuestas para la primera serie.

RESULTADOS**SERIE I. RESPUESTA AL IMPLANTE DE ALOINJERTO FRESCO INTRAARTICULAR.**

La respuesta tisular es intensa y relativamente agresiva en esta serie experimental. Efectivamente, ya a las dos semanas, existe una manifiesta infiltración inflamatoria alrededor del implante. Incluso, muchos de los elementos inflamatorios se

encuentran dispersos, entre el intersticio del tejido implantado. Este hecho se sigue observando en estadios más avanzados (Figura nº 1).

Hemos apreciado, una cierta variación de la intensidad de respuesta inflamatoria-inmunitaria, según el caso estudiado, distinguiéndose en algunos de ellos, escasa cantidad de células inflamatorias.



Figura nº 1. Aloinjerto en fresco. Intensa reacción inflamatoria alrededor del tejido implantado. Obsérvese como algunos de los elementos inflamatorios se disponen en los intersticios del implante.

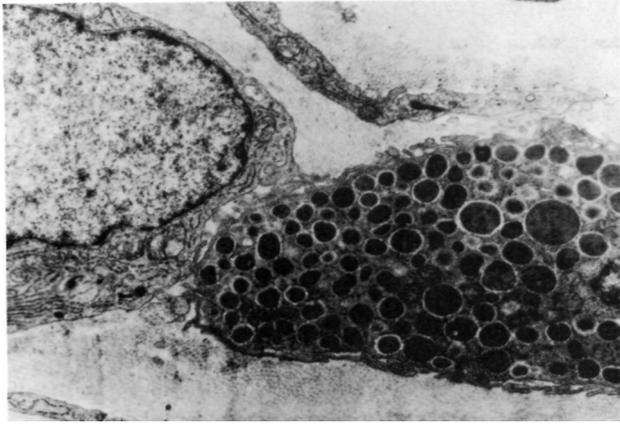


Figura nº 2. Aloinjerto en fresco. Imagen ultraestructural de un mastocito con gran cantidad de gránulos de secreción junto a un fibroblasto.

Dicho componente inflamatorio, está constituido por macrófagos y elementos linfocitarios. Durante los primeros días, se observan también leucocitos polinucleares neutrófilos y mastocitos (Figura nº 2).

La respuesta reparativa es variable, observándose fenómenos de angiogénesis. No obstante, el tejido fibroso cicatricial definitivo, no muestra claros signos de orientación; se mantienen durante todo el tiempo de la experiencia la respuesta inflamatoria-inmunitaria y se aprecian áreas con diferentes características según la zona examinada.

SERIE II. RESPUESTA AL IMPLANTE DE ALOINJERTO CONGELADO INTRAARTICULAR.

En el implante intraarticular de aloinjerto congelado, llama la atención la presencia de una respuesta reparativa asociada a una leve reacción inflamatoria. En este orden de cosas, durante los primeros días se observan algunos leucocitos polinucleares y elementos macrofágicos, entre fibrina, dispuesta alrededor del tejido implantado. Desde fases muy tempranas (primera semana), se observan intensos fenómenos de angiogénesis, puestos de manifiesto por numerosas yemas vasculares con elementos perivasculares prominentes que, organizándose en tejidos vascularizados sinoviales, rodean y se introducen entre el tejido implantado. Ultraestructuralmente, las yemas vasculares neoformadas, muestran endotelios de citoplasma amplio y luces de variable calibre, a la vez que células pericitarias muy desarrolladas (Figura nº 3). Progresivamente, se aprecian áreas que van siendo penetradas por elementos fibroblásticos y algunas yemas vasculares (Figura nº 4). Los fibroblastos muestran variable desarrollo de sus organelas citoplasmáticas o aparecen quiescentes entre antiguos paquetes de fibras colágenas (Figura nº 5). En



Figura nº 3. Aloinjerto congelado. Imagen ultraestructural de una yema vascular que presenta células endoteliales de citoplasma amplio, luces de variable calibre y elementos pericitarios muy desarrollados.

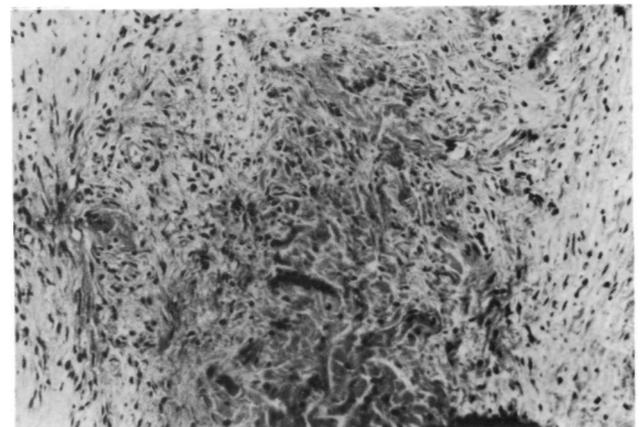


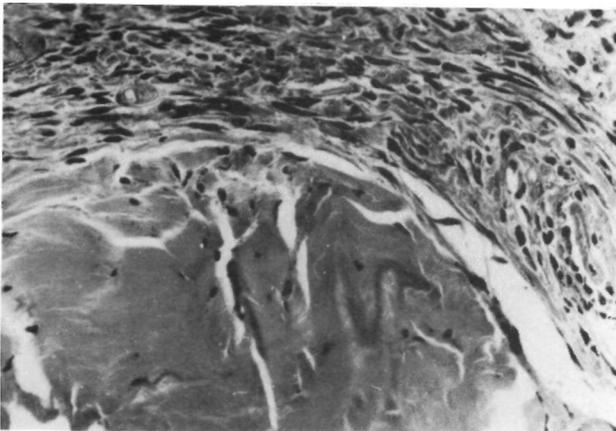
Figura nº 4. Aloinjerto congelado. Zona de implante en la que se aprecia intensa penetración de elementos fibroblásticos así como de yemas vasculares.

algunas áreas, las células fibroblásticas, más o menos modificadas, parecen corresponder a las primitivas del propio injerto.

En algunos casos, la respuesta reparativa es muy manifiesta en torno al tejido injertado, manteniéndose éste, con muy escasa celularidad (Figura nº 6). En estos casos, no es extraño que en estadios avanzados, se observen amplias zonas colágenas



Figura nº 5. Aloinjerto congelado. Imagen al M. E. de un fibroblasto que presenta moderado desarrollo de sus organelas citoplásmicas, destacando entre estas, las mitocondrias.



Figuranº 6. Aloinjerto. Obsérvese la escasa celularidad que presenta el implante puesta de manifiesto fundamentalmente en áreas próximas al tejido de reparación.

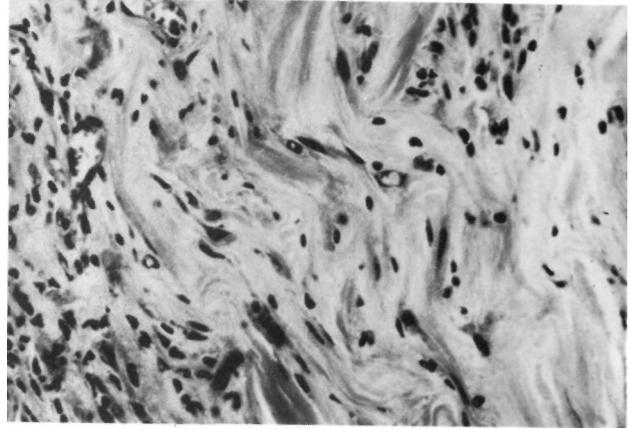
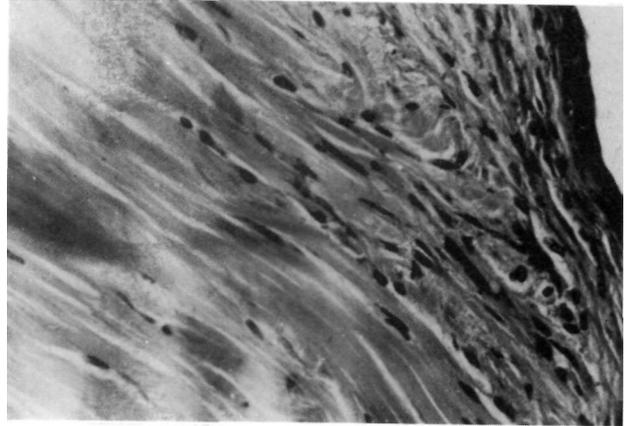


Figura nº7. Aloinjerto congelado. Elementos fibroblásticos y componente angiogénico dispuesto entre el material implantado.



Figur nº 8. Aloinjerto congelado. Delimitación periférica del implante por tejido sinovial.

acelulares, sobre las que pueden depositarse, en ocasiones, sales cálcicas, dando origen a zonas calcificadas de variable amplitud. En otras regiones, la población fibroblástica y angiogénica presente entre el material injertado, es muy evidente (Figura nº 7), persistiendo a lo largo del tiempo, vasos sanguíneos entre el componente fibrilar preexistente. Dichos vasos, pueden discurrir con luces aparentemente virtuales, o bien, construir luces distendidas con material proteináceo en su interior.

En general, a todos los hechos expuestos, se suma una delimitación periférica que le aísla de los componentes sinoviales (Figura nº 8).

DISCUSIÓN

La mayoría de los autores, están de acuerdo en considerar al LCA, como un elemento básico en la función normal y coordinada de la articulación de la rodilla, y lo conceptúan como un importante estabilizador intraarticular que trata de evitar las situaciones de inestabilidad anteromedial y anterolateral de la misma (1,2,3,4,5,6 y 7). Este hecho se pone de manifiesto cuando fuerzas de varo o valgo y

rotación excesiva o hiperextensión, actúan sobre la rodilla y, en este caso, se puede provocar el fracaso funcional y/o morfológico del ligamento.

No obstante, a la hora de reparar una lesión del LCA debe individualizarse cada caso, cada paciente, pues hay que considerar diversos factores, tales como la edad, lesiones intraarticulares y capsulares asociadas, actividades deportivas, exigencias del trabajo y motivaciones del individuo (8,9).

Ante una lesión aguda en la que se piense efectuar reparación adecuada, y si los muñones no dan apoyo a suturas, se debe reforzar dicha reparación con tejido natural a ser posible, o refuerzos sintéticos.

Ante una insuficiencia crónica, si queremos reconstruir, hay en líneas generales, tres procedimientos: reemplazos intraarticulares, procedimientos extraarticulares o formaciones combinadas. La combinación exacta de técnicas elegidas, depende de la clasificación y gravedad de la inestabilidad.

Prácticamente, todas las estructuras de la rodilla, se han utilizado como sustitutos, siendo las fuentes más comunes: el aparato extensor (tendón rotuliano, rótula y tendón del cuádriceps), tendones posteriores de la rodilla (recto interno, semitendinoso) y la banda o tracto iliotibial.

Los estudios biomecánicos de diferentes grupos de autores (10,11,12,13), han aportado datos, acerca de cual de las estructuras empleadas es más o menos fuerte con respecto al LCA, seleccionando a las unidades de tendón rotuliano-hueso y a las preparaciones de tendón de recto interno y semitendinoso (13), como las más apropiadas, junto con tiras de fascia lata que sean muy anchas (+/- 45mm.); también el mejor conocimiento de la cinemática de la rodilla, ha permitido conocer, que unos puntos de inserción precisos del sustituto, dan la tensión adecuada, sin limitar el movimiento articular.

Desde el punto de vista biológico, el problema radica, fundamentalmente, en la vascularización del injerto y en el anclaje de éste en el hueso ("interfase").

Los tejidos autógenos, como el tendón patelar, gozan de amplia aceptación como sustitutos del LCA, como así lo demuestran el gran número de series publicadas sobre intervenciones en la rodilla humana. El único problema, es que exigen sacrificar una estructura periarticular, con lo que pueden comprometer a otras. El uso de mucha fascia lata puede contribuir a una inestabilidad lateral y el

sacrificio de un tercio de tendón patelar, puede interferir el mecanismo extensor (14). Por otro lado, como se ha demostrado en estudios experimentales (15,16), existe un período desde el momento del implante, en el cual son avasculares o, dicho de otra manera, se comportan como injertos libres. De todo esto, nació la idea de utilizar aloinjertos como sustitutos de LCA.

En nuestros casos el período avascular del tendón fué muy difícil de establecer, ya que dependía de la región examinada. Efectivamente, las zonas intraóseas del implante iniciaban su revascularización periférica entre la primera y tercera semana, tiempo en que se observan vasos neoformados en los territorios que rodean al tendón. Las zonas que discurren entre el líquido sinovial, han demostrado diferente respuesta vascular, dependiendo de la reacción sinovial. En general, se produce proliferación de elementos vasculares y fibroblásticos en torno al tendón, con penetración progresiva de los mismos, entre el intersticio de los componentes tendinosos.

Diferentes trabajos experimentales (17,18) demuestran una revascularización del aloinjerto que fué similar a la observada en el autoinjerto. Su empleo, está indudablemente en función de su biocompatibilidad. Ha sido comprobado, que la congelación minimiza la antigenicidad de los tejidos conectivos (19,20,21,22) y aunque se desconoce el mecanismo exacto, se postula que tal técnica de preservación, se fundamenta en la destrucción celular y desnaturalización de los antígenos de histocompatibilidad sobre su superficie.

Nuestras observaciones en el implante de aloinjerto en fresco, ponen de manifiesto una intensa respuesta inflamatoria, que se ubica predominantemente alrededor del material implantado, y en menor proporción, en el intersticio tendinoso. Hemos de llamar la atención, sobre la persistencia del infiltrado inflamatorio durante todo el tiempo de la experiencia. En algunos casos la respuesta fué de menor intensidad, probablemente, en relación con la endogamia existente en las ratas utilizadas. Conjuntamente con los fenómenos inflamatorios, se aprecia angiogénesis y proliferación de elementos celulares formadores de fibras de tejido conectivo.

Por todo lo expuesto, es evidente que en la respuesta biológica ante los aloinjertos frescos, se sigue conservando el esquema general de la suma de fenómenos inflamatorios y reparativos. Lo que varía de unas experiencias a otras es la intensidad de dichos fenómenos. En este caso, predominan los

inflamatorios propiamente dichos, sobre los reparativos. Por otra parte, estos últimos mecanismos, conducen a una cierta fibrogénesis, aunque sin una orientación precisa de las fibras colágenas, probablemente distorsionada por el comportamiento inflamatorio. Todo ello permite concluir que este procedimiento técnico, no conduce, desde el punto de vista de la respuesta biológica, a un tejido convenientemente organizado que sirva de elemento tendinoso.

La revascularización en el trabajo de Shino y cols. (18), fué completa, en la sexta semana del postoperatorio, sorprendentemente un poco más rápida que en el autoinjerto (15,23,24), surgiendo estos autores que las células viables tendinosas en los autoinjertos, contribuyen poco a la revascularización. Los diferentes cortes histológicos, a lo largo del tiempo que duró el experimento, mostraron un proceso de remodelado progresivo y los especímenes de entre la 30 y 52 semanas, recordaban al LCA normal.

Para Arnoczky y cols. (17), la revascularización fué similar a su trabajo previo con autoinjerto (25). Esta fué completa a los 5 meses, y a los 6 meses, recordaban al ligamento normal. Recientemente, el grupo de Shino y cols. (26) han publicado un estudio artroscópico e histológico, realizado en rodillas humanas, en las que se había implantado aloinjerto de cadáver congelado como sustituto de LCA, y concluyen que el sustituto, es infiltrado por yemas vasculares del huésped a las 6 semanas y que gradualmente se remodela, alcanzando a los 18 meses su madurez, como un nuevo LCA.

Al igual que en las series experimentales anteriormente discutidas, la respuesta biológica ante el aloinjerto congelado, consistió en fenómenos inflamatorios y reparativos. No obstante, los primeros fueron de muy escasa intensidad, mientras que los segundos, alcanzaron un buen desarrollo, observándose abundantes yemas vasculares, originadas en la membrana sinovial, que rodean el implante y penetran entre los tractos colágenos de éste último. Estos hechos, están de acuerdo, con los criterios ya señalados por algunos autores (17,23,26), respecto al estímulo que determina la penetración angiogénica. En otras palabras, como ya se ha expuesto, no se necesita la viabilidad de los elementos celulares preexistentes del tendón, ya que estas experiencias, resaltan la importancia del componente intersticial, tanto fibrilar, como el propio de la matriz interfibrilar.

Conjuntamente con las yemas vasculares hemos puesto de manifiesto, la penetración de elementos fibroblásticos en el aloinjerto congelado. Nos ha llamado la atención, que los nuevos fibroblastos, son capaces de una adaptación territorial entre los primitivos paquetes de fibras colágenas. Con toda probabilidad, se origina un sistema de adaptación con formación de nueva colágena y degradación parcial de la que existía con anterioridad.

El mecanismo previamente expuesto, en cierta manera, permite, la sustitución parcial de los componentes tendinosos del aloinjerto congelado, por otros neoformados. En otras palabras, parte del tendón, sirve como "un sistema de guía" del nuevo tendón; no obstante, en nuestras experiencias, este hecho no fué absoluto, observándose zonas de tendón, con muy escasa penetración fibroblástica, durante un tiempo relativamente largo, lo que condicionaba la presencia de áreas acelulares. No es extraño, que estas últimas áreas, contituyan un foco de calcificación distrófica.

Al igual que en otras series, en las que existe una conservación o reorganización tendinosa, la superficie del tendón, se ve modificada por la respuesta reparativa, con proliferación de yemas vasculares y elementos fibroblásticos, conducentes a un tejido de remodelación que, en algunos territorios, llegan a determinar la aparición de una limitante similar a la de la sinovial.

CONCLUSIONES

1.- El implante de aloinjertos en fresco, conlleva intensos cambios alterativos, respuesta inflamatoria e inmunoalérgica muy marcadas, y fenómenos reparativos de moderada intensidad, generalmente distorsionados por la respuesta inflamatorio-inmunitaria. Por lo tanto, como era de esperar, los resultados biológicos pueden ser catalogados de insatisfactorios.

2.- En el aloinjerto de tendón congelado intraarticular, se reduce considerablemente la respuesta alterativa en el material fibrilar, así como los fenómenos inflamatorios e inmuno-alérgicos, exponente este último hecho de una pérdida de la antigenicidad. A todo ello, se suma la presencia de fenómenos reparativos intensos, conducentes a la modulación fibrosa, con buena orientación fibrilar. En algunos casos, el material primitivo, no fué revascularizado, experimentando fenómenos de calcificación distrófica. Los resultados biológicos, pueden ser considerados como aceptables.

Bibliografía

- 1.- **Burger, P.C.; Chandler, D.B.; Klintworth, G.K.:** Corneal neovascularization as studied by scanning electron microscopy of vascular casts. *Lab. Invest.* 1983, 48: 169.
- 2.- **Clancy, N.G.; Nelson, D.A. ; Reider, B. ; Narechania, N.G.:** Anterior cruciate ligament reconstruction using one-third of patellar ligament, augmented by extra-articular tendon transfers. *J. Bone Joint Surg.* 1982, 64A: 352.
- 3.- **Galway, H.R.; Macintosh, D.L.:** The lateral pivot shift: A symptom and sign of anterior cruciate ligament insufficiency. *Clin. Orthop.* 1980, 147: 45.
- 4.- **Girgis, F.G. ; Marshall, J.L. ; Manajem, A.R.S.:** The cruciate ligaments of the knee joint. Anatomical, functional and experimental analysis. *Clin. Orthop.* 1975, 106: 216.
- 5.- **Lipke, JJVL; Janecki, C.J. ; Nelson, C.L. et al:** The role of incompetence of the anterior cruciate and lateral ligaments in anterolateral and anteromedial instability. A biomechanical study of cadaver knees. *J. Bone Joint Surg.* 1981, 63A: 954.
- 6.- **Losee, R.E. ; Johnson, T.R. ; Southwick, W.O.:** Anterior subluxation of the lateral tibial plateau. A diagnostic test and operative repair. *J. Bone Joint Surg.* 1978, 60A: 1015.
- 7.- **Slocum, D.B.; James, S.L.; Larson, R.L.; Slinger, K.M.:** Clinical test for anterolateral rotary instability of the knee. *Clin. Orthop.* 1976, 118: 63.
- 8.- **Sisk, T.D.:** Lesiones delarodilla. En *Campbell: Cirugía Ortopédica*. Ed. Panamericana. Buenos Aires. Cap. 52.1988,2315 y 2329.
- 9.- **Warren, R.F.:** Lesiones ligamentarias agudas. En *Insall y cols.: Cirugía de la rodilla*. Ed. Panamericana. Buenos Aires. Cap. 12. 1986, 292.
- 10.- **Butler, D.L.; Noyes, F.R.; Grodd, E.S. et al:** Mechanical properties of transplants for the anterior cruciate ligament. *Trans. Orthop. Res. Soc.* 1979, 4: 81.
- 11.- **Cabaud, H.E.:** Biomechanics of the anterior cruciate ligaments. *Clin. Orthop.* 1983, 172: 26.
- 12.- **Grodd, E.S.; Noyes, F.R.:** Cruciate ligament prosthesis: Strength, creep, fatigue properties. *J. Bone Joint Surg.* 1976,68A: 1083.
- 13.- **Noyes, F.R. ; Butler, D.L. ; Paulos, L.E. ; Grodd, E.S.:** Intra-articular cruciate reconstruction. I. Perspectives on graft strength, vascularization and immediate motion after replacement. *Clin. Orthop.* 1983, 171: 71.
- 14.- **McMaster, W.C.:** A histologic assessment of canine anterior cruciate substitution with bovine xenograft. *Clin. Orthop.* 1985,196: 196.
- 15.- **Aim, A.; Gillquist, J.:** Reconstruction of the anterior cruciate ligament by using the medial third of the patellar ligament. *Acta Chir. Scand.* 1974, 140: 289.
- 16.- **Alm, A.; Stromberg, B.:** Transposed medial third of patellar ligament in reconstruction of the anterior cruciate ligament. A surgical and morphologic study in dogs. *Acta Chir. Scandinava. Suppl.* 1974, 445: 37.
- 17.- **Arnockzy, S.; Warren, R.F.; Ashlock, M.:** Replacement of the anterior cruciate ligament using patellar tendon allograft. *J. Bone Joint Surg.* 1986, 68A: 376.
- 18.- **Shino, F.; Kawasaki, T.; Hirose, H. et al.:** Replacement of the anterior cruciate ligament by an allogenic tendon graft. An experimental study in the dog. *J. Bone Joint Surg.* 1984, 66B: 672.
- 19.- **Friedlander, G.E.; Strong, D M; Sell, K.W.:** Studies on the antigenicity of bone. I. Freezedried and deep-frozenbone allografts in rabbits. *J. Bone Joint Surg.* 1976, 58A: 854.
- 20.- **Graham, W.C.; Smith, D.A.; McGuire, M.P.:** The use of frozen stored tendons for grafting. An experimental study. *J. Bone Joint Surg.* 1955, 37A: 624.
- 21.- **Gresham, R.B.:** Freeze-drying of human tissue for clinical use. *Cryobiology.* 1964, 1: 150.
- 22.- **Langer, F.; Critrom, A.; Pritzker, K.P.; Gros, A.E.:** The immunogenicity of fresh and frozen allogeneic bone. *J. Bone Joint Surg.* 1975, 57A: 216.
- 23.- **Arnockzy, S.P.; Tarvin, G.B.; Marchall, J.L.:** Anterior cruciate ligament replacement using patellar tendon. An evaluation of graft revascularization in the dog. *J. Bone Joint Surg.* 1982, 64A: 217.
- 24.- **Clancy, W.G. Jr.; Narechania, N.G.; Rosenberg, T.D. et al.:** Anterior and posterior cruciate ligament reconstruction in Rhesus monkeys. A. histological, microangiographic and biomechanical analysis. *J. Bone Joint Surg.* 1981, 63A: 1270.
- 25.- **Arnockzy, S.P.:** Anatomy of the anterior cruciate ligament. *Clin. Orthop.* 1983, 127: 19.
- 26.- **Shino, K.; Inoue, M.; Horibe, S. et al.:** Maturation of allograft tendons transplanted into the knee. *J. Bone Joint Surg.* 1988, 70B: 556.