

Los aloinjertos óseos en Cirugía Ortopédica y Traumatología (I)

Bone allografts in Orthopedic Surgery (I)

Servicio de Traumatología y Cirugía Ortopédica
Centro de Rehabilitación FREMAP
Majadahonda (Madrid)

Vicario Espinosa C.

RESUMEN

El empleo de aloinjertos óseos en Cirugía Ortopédica y Traumatología continúa siendo en la actualidad una técnica quirúrgica habitual en el tratamiento de los diferentes tipos de defectos óseos.

En el presente artículo de revisión se desarrollan una serie de conceptos básicos en el empleo de los aloinjertos óseos junto a una breve comparación con otros tipos de sustitutos óseos.

Posteriormente se revisan las características de los Bancos de Huesos, así como los diversos medios de procesamiento de las piezas obtenidas, para finalmente hacer un repaso a los procesos biológicos e inmunológicos que suceden tras la implantación de un aloinjerto óseo.

La presente revisión será continuada en un próximo número por otro de similares características en el que se recogerán fundamentalmente las indicaciones y utilidades actuales de los aloinjertos en Cirugía Ortopédica y Traumatología.

Palabras clave: Aloinjerto óseo, sustituto óseo.

Vicario Espinosa C
Los aloinjertos óseos en Cirugía Ortopédica y Traumatología (I)
Patología del Aparato Locomotor, 2004; 2 (3): 214-232

ABSTRACT

Employment of bone allografts in Orthopedic Surgery and Traumatology is actually a common surgical technique in the treatment of different kinds of bone defects.

In the present review some basic concepts about bone allografts are developed and a brief comparison with other bone substitutes is done.

Characteristics of Bone Banks are later reviewed, and an analysis of several processing techniques of bone allografts is performed. Finally, a description of the main biological and immunological processes involved in bone allograft incorporation is done.

This paper will be followed by another one in which actual indications and usefulness of bone allografts in Orthopedic Surgery are reviewed.

Key words: Bone allografts, bone substitute.

Vicario Espinosa C
Bone allografts in Orthopedic Surgery (I)
Patología del Aparato Locomotor, 2004; 2 (3): 214-232

Correspondencia:

C. Vicario Espinosa
Centro de Rehabilitación FREMAP
Ctra. Pozuelo, 61
28220 Majadahonda (Madrid)
E-mail: cvicario@iespana.es

INJERTOS ÓSEOS

«En gran número de operaciones ortopédicas es necesario utilizar injertos óseos. En ocasiones no es posible extraerlos del propio enfermo (hueso autógeno o autólogo), y resulta útil el hueso de otro ser humano (homogéneo u homólogo) o de otro animal (heterogéneo o heterólogo)» (1).

Casi medio siglo después de publicadas estas palabras del profesor Sanchís Olmos, la pérdida de masa ósea continúa siendo uno de los problemas más frecuentes a los que se enfrenta el cirujano ortopédico en su práctica quirúrgica diaria, ya sea para rellenar o sustituir defectos óseos, ya sea para favorecer la consolidación tras fracturas o pseudoartrosis (2-4). Ante un defecto óseo la actitud más frecuentemente adoptada por el cirujano ortopédico continúa siendo el empleo de sustitutos óseos. La única excepción la constituyen las técnicas de transporte óseo (técnica de Ilizarov) (5), indicadas en defectos traumáticos mayores de 6-7 cm (6, 7) y discrepancias de longitud de miembros entre los 5 y 10 cm (8), y que no están exentas de graves complicaciones (9, 10).

Funciones de los injertos óseos

Osteogénesis

El término osteogénesis hace referencia a la formación de nuevo hueso sin indicación del origen celular (11, 12). El injerto osteogénico de referencia es el autoinjerto de cresta ilíaca no tratado. Cuando se forma hueso sobre el injerto o a su alrededor, éste puede tener su origen en el propio injerto (células que sobreviven al tratamiento del injerto) o en células del huésped (13). Se ha demostrado que con un adecuado manejo pueden sobrevivir células en la superficie de los injertos corticales y esponjosos (14-16), siendo estas células clave para la formación de callo óseo en las primeras cuatro a ocho semanas tras la implantación (17). Lógicamente, el hueso esponjoso, gracias a su mayor superficie, puede albergar más células aquiescentes y, por tanto, tiene una mayor capacidad para formar hueso desde el propio injerto que el injerto de cortical (18). La osteogenicidad de un injerto puede alterarse y mejorarse gracias a diversos compuestos y biomateriales como el fosfato octacálcico (19).

Recientemente se ha demostrado la capacidad de células mesenquimales pluripotenciales de adquirir capacidad osteogénica mediante la variación de substratos sintéticos y de su ambiente (20, 21), lo cual abre la puerta a la capacidad de dotar de capacidad osteogénica a diversos biomateriales.

Osteoinducción

La osteoinducción consiste en el reclutamiento de células de tipo mesenquimal que pueden diferenciarse en células formadoras de cartílago o formadoras de hueso. La osteoinducción está mediada por factores provenientes del injerto y es escasa en los injertos mineralizados (cuya máxima capacidad osteoinductora proviene de las células vivas que portan) y muy importante en los no mineralizados (22-24). La matriz ósea contiene diversas proteínas morfogenéticas, factor transformante β , factores similares a insulina I y II, factores de crecimiento fibroblástico ácido y básico, factor de crecimiento derivado de plaquetas, interleucinas, factores estimuladores de colonias de granulocitos y de granulocitos-macrófagos, etc. (25, 26), los cuales inducen la diferenciación de las células mesenquimales en células formadoras de hueso. Un buen estado del lecho sobre el que asienta el injerto osteoinductor es clave para su éxito ya que éste depende del reclutamiento de células del huésped. Por ejemplo, en un lecho muy fibrótico y previamente irradiado la formación de hueso alrededor del injerto dependerá casi exclusivamente de la capacidad osteogénica del mismo y no de su capacidad osteoinductora (17).

Sin embargo la osteoinducción no es una propiedad exclusiva de la matriz ósea y sus proteínas, puesto que recientemente ha sido descrita para los aloinjertos óseos esterilizados y conservados (27) y para diversos biomateriales como el titanio (28).

Osteoconducción

La osteoconducción es el proceso tridimensional de crecimiento de brotes vasculares, tejido perivascular y células osteoprogenitoras desde el lecho del receptor al interior del injerto. La osteoconducción puede ocurrir por una neoformación ósea activa por osteoinducción o puede

sucedir pasivamente sin la participación del propio injerto, como sucede en la mayoría de aloinjertos corticales. La osteoconducción no es un proceso aleatorio y sigue un patrón espacial ordenado y predecible determinado por la estructura del injerto, el aporte vascular desde los tejidos colindantes, el ambiente mecánico y la presencia de otros biomateriales (17, 19, 29).

Autoinjertos

En la actualidad el patrón oro para los sustitutos óseos continúa siendo el autoinjerto de esponjosa, habitualmente obtenido de la cresta ilíaca (2) (Fig. 1). Las principales ventajas de este autoinjerto de esponjosa son que es fuertemente osteogénico, que es fácilmente revascularizado y que se integra rápidamente en el huésped (17, 30); sin embargo, tiene varias limitaciones: en primer lugar, debemos tener en cuenta la morbilidad del sitio donante, que incluye la aparición de dolor postoperatorio, en ocasiones muy intenso, la posibilidad de infección, y más raramente la anestesia en el muslo, la herniación muscular, la meralgia parestésica, la subluxación de la cadera y la consiguiente prolongación de la estancia hospitalaria (31-34) (Fig. 2); en segundo lugar, su principal factor limitante es la escasez de volumen de injerto disponible, especialmente en niños (2); y por último, el autoinjerto de cresta ilíaca proporciona un escaso soporte mecánico, lo cual limita su empleo en situaciones en las que se precisa un injerto estructural (35). Por todo esto, parece generalmente aceptado que las indicaciones

ideales de este autoinjerto quedan limitadas a defectos menores de 6 cm sobre un lecho bien vascularizado y no infectado (10, 36, 37) (Fig. 3).

Con el fin de ampliar las indicaciones de los autoinjertos de esponjosa se han desarrollado diversas técnicas de autoinjertos óseos vascularizados, ya sean pediculados procedentes del peroné (38, 39), de la cresta ilíaca (39, 40), de tercio distal de radio (41), etc.; ya sean libres, entre los que el de peroné es con diferencia el más frecuentemente usado (10, 42). Sin embargo, aunque aportan algunas ventajas evidentes, también presentan limitaciones, especialmente derivadas de la cantidad de injerto disponible, la dificultad técnica y la morbilidad del sitio donante (43).



Fig. 1. Autoinjerto obtenido de cresta ilíaca.



Fig. 2. Fractura de la espina ilíaca anterosuperior tras toma de autoinjerto de esponjosa.



Fig. 3. Reducción abierta y fijación interna de fractura femoral con autoinjerto de cresta ilíaca.

Debido a las limitaciones referidas en el empleo de autoinjertos se han desarrollado dos tipos de estrategias diferentes cuando se precisa un injerto óseo: por un lado, el empleo de aloinjertos, y por otro, el de sustitutos óseos sintéticos.

Sustitutos óseos sintéticos

Se calcula que de los 500.000 a 600.000 injertos óseos empleados anualmente en Estados Unidos, el 10% aproximadamente corresponden a sustitutos óseos sintéticos, y esta cifra está aumentando de manera significativa en los últimos años (44, 45).

Estos sustitutos óseos sintéticos pueden estar compuestos por hidroxiapatita, fosfato tricálcico, sulfato cálcico o una combinación de estos minerales. La técnica de fabricación, la cristalinidad, las dimensiones del poro, las propiedades mecánicas y la tasa de reabsorción pueden variar (44) (Fig. 4).

En la actualidad se están publicando numerosos estudios sobre el empleo clínico de diversos compuestos de este tipo, y las indicaciones no están aún claramente establecidas, pero en muchas ocasiones parecen superponerse a las de los auto y aloinjertos (28,45-49).

Sin entrar a analizar las diferencias entre los diversos compuestos disponibles en el mercado, los sustitutos óseos sintéticos comparten diversas ventajas sobre los auto y los aloinjertos, incluyendo la ilimitada disponibilidad, la facilidad para su esterilización y su almacenaje (44). Sin embargo, presentan diversas limitaciones, como la variabilidad en su carácter osteoconductor, las diferencias entre la repoblación celular de las diferentes matrices, los efectos potencialmente adversos sobre el remodelado óseo normal, los aspectos comerciales relacionados con su utilización; pero la principal limitación práctica que presentan de forma conjunta es la escasa capacidad de proporcionar soporte mecánico lo que contraindica su uso como injertos estructurales (44, 46, 49-58).

Por todos estas razones el empleo clínico de los aloinjertos en cirugía ortopédica y traumatología continúa siendo mayoritario, de modo que en Estados Unidos se calcula que se emplean entre 150.000 y 200.000 aloinjertos musculoesqueléticos al año (17, 35), constituyendo el tejido más frecuentemente injertado en la práctica médica y quirúrgica (59, 60).

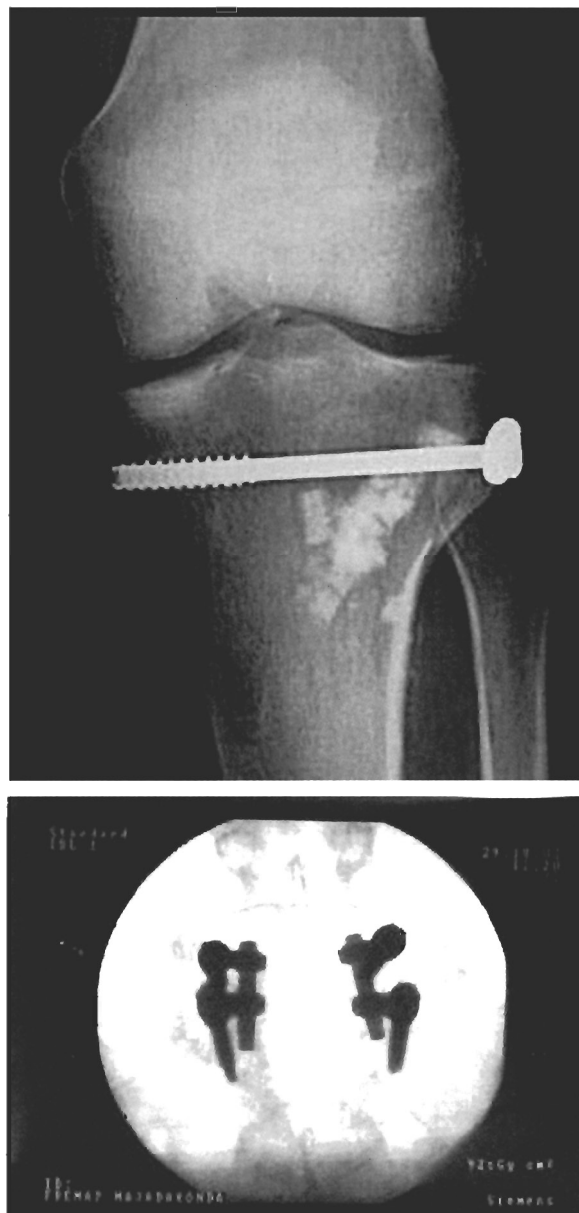


Fig. 4. Diferentes formas e indicaciones del empleo de fosfato tricálcico en una fractura de meseta tibial y en una artrodesis lumbar posterolateral.

ALOINJERTOS ÓSEOS

En ocasiones, la terminología empleada en los trasplantes de tejidos resulta confusa, por ello es conveniente iniciar este apartado aclarando determinados conceptos y definiciones. Un aloinjerto es un tejido transferido entre dos individuos genéticamente diferentes de la misma especie; es un concepto que debe ser claramente diferenciado

del de xenoinjerto, que es el tejido transferido desde un individuo de otra especie. Además hay otros dos aspectos que conviene aclarar cuando se habla de trasplantes, en este caso óseos, como son el de injerto ortotópico, que es aquel que se coloca en una localización anatómicamente apropiada; mientras que el injerto heterotópico es aquel que se coloca en un lugar anatómicamente inapropiado (17).

Introducción

El primer antecedente histórico de trasplante de un miembro pertenece más bien al terreno de la leyenda que al de la ciencia: según la tradición, en el siglo VI los santos Damián y Cosme realizaron un milagro que consistió en el trasplante de la pierna enferma de un sacristán por la de un moro recién fallecido. Este hecho fue objeto de numerosas representaciones artísticas en el renacimiento (61).

El primer trasplante óseo dentro de un ámbito más científico del que tenemos noticia fue realizado por un cirujano holandés llamado Job van Meekeren en 1668, y trasplantó con éxito el cráneo de un perro a un defecto craneal de un soldado (62).

En términos estrictamente científicos, el concepto de preservación de injertos óseos ya fue considerado en el siglo XIX por Ollier (63), y es en 1881 cuando Macewen publica el primer caso conocido de trasplante óseo en un defecto de tercio proximal de húmero realizado dos años antes (64). Lexer, en 1908, publica el caso de un trasplante de una hemiarticulación (65), y gracias, entre otros, a trabajos posteriores del mismo autor (66) se inicia un interés creciente de los cirujanos ortopédicos de comienzos de siglo XX por el empleo de los aloinjertos masivos para la reconstrucción de los grandes defectos esqueléticos. Por otro lado, resulta destacable en este sentido el trabajo de Albee (67) que usaba injertos óseos provenientes de miembros amputados para favorecer la fusión vertebral y la consolidación de pseudoartrosis. De esta misma época datan los trabajos de Tuffier (68, 69) y Bauer (70) en Europa y de Carrell (71) en Estados Unidos gracias a los cuales se asientan las bases del empleo de aloinjertos provenientes de donantes fallecidos.

En los años cuarenta se inician, con los trabajos de Inclan en La Habana, Cuba (72), los pri-

meros esfuerzos eficaces en el almacenaje de aloinjertos y su empleo en cirugía programada. En 1946 Wilson (73) comienza a emplear su propio banco de huesos conservados por congelación provenientes de donantes vivos en Nueva York. En España el primer banco de huesos lo crea el profesor Sanchís Olmos en el Hospital Provincial de Madrid (1) en 1951 empleando huesos provenientes de amputaciones, en ocasiones traumáticas y otras por gangrenas gaseosas y conservándolas con Timerosal. Posteriormente, en 1953 se constituyó el Banco Nacional de Huesos como una sección del Instituto de Hematología y Hematoterapia (74, 75)

Es a comienzos de los sesenta cuando empiezan a aparecer grandes series de casos de reconstrucción con aloinjertos tras la constatación empírica de que la congelación y descongelación de los mismos reducía significativamente la respuesta inmune (76, 77). En estas primeras series (78-80) ya se pudo valorar que las técnicas de reconstrucción con aloinjertos aunque proporcionaban resultados alentadores, no estaban exentas de complicaciones frecuentes y graves, como la infección (9-15%), la fractura (29-41%) o la reabsorción del injerto (4-14%).

En la actualidad podemos afirmar que incluso, a pesar de sus potenciales riesgos, como la transmisión de enfermedades contagiosas, el uso de aloinjertos óseos conservados ha demostrado ser una buena y, en ocasiones, única alternativa para la reconstrucción de defectos óseos independientemente de su causa (35, 81-94).

Sin embargo, el principal inconveniente del empleo de aloinjertos óseos es el riesgo teórico de transmisión de enfermedades contagiosas, lo cual obliga a establecer el funcionamiento de un banco de huesos, cuya organización supone la creación de una serie de infraestructuras complejas que han de abarcar los procesos que están involucrados desde la selección del donante hasta la conservación y distribución previas a utilización clínica de la pieza en cuestión.

Banco de huesos

La necesidad de injertos seguros tanto biológica como bacteriológicamente hace que el desarrollo de un banco de huesos y tejidos sea un proceso complejo y sometido rigurosos controles legales y técnicos.

Se define un banco de huesos a la institución sin ánimo de lucro encargada de la obtención, procesamiento, preservación y almacenamiento de tejidos humanos con vistas a su distribución para aplicación clínica como aloinjertos (95).

En España la Organización Nacional de Trasplantes, adscrita al Ministerio de Sanidad y Consumo, se encarga de todas las actividades relacionadas con la donación, extracción, distribución e intercambio de órganos y tejidos. Por otro lado, la Asociación Española de Bancos de Tejidos, creada en 1994, ha elaborado unas recomendaciones y estándares (96) basada entre otros en las realizadas por la American Association of Tissue Banks (97) y la European Association of Tissue Banks (98) con el fin de garantizar la seguridad y la calidad en la manipulación, almacenamiento y aplicación clínica de células y tejidos.

La Food and Drug Administration (FDA) ha elaborado una guía estandarizada para la selección de los donantes de tejidos musculoesqueléticos, en la que se basan la mayor parte de protocolos disponibles en la actualidad (99). Una vez seleccionado convenientemente el donante, tras la extracción de la pieza de forma conveniente (95, 100-106), con el fin de evitar su contaminación durante la extracción, y salvo en el caso de los aloinjertos en fresco, es necesario iniciar los procesos encaminados a su conservación.

Los injertos pueden ser obtenidos en condiciones estériles y conservarse congelados a diversas temperaturas sin ninguna esterilización adicional; o bien pueden ser sometidos a diversos procesos de esterilización como la radiación gamma, el óxido de etileno o el autoclavado, para después ser conservados mediante la congelación o la liofilización, ya que los procesos de selección del donante han demostrado no ser suficientes para la exclusión de los donantes infecciosos (107).

Aloinjertos en fresco

El empleo de aloinjertos en fresco en la actualidad está muy limitado principalmente por dos factores (108, 109): 1.º provocan una intensa reacción inmunológica en el huésped que puede desembocar en el rechazo del aloinjerto, y 2.º el riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas.

Estas desventajas no suelen compensar la teórica capacidad osteoinductiva, osteoconductiva

y osteoogénica de este tipo de injertos, y en la actualidad su utilización clínica está limitada a los injertos osteocondrales (110-112) que pueden estar indicados en determinadas lesiones osteocondrales especialmente en la rodilla (113) (Fig. 5) y en las secuelas de las fracturas de meseta tibial (114).

Para disminuir la respuesta inmunológica que despiertan estos injertos y evitar la transmisión de enfermedades se han desarrollado técnicas de criopreservación del cartílago a pesar de una mayor lentitud en su reincorporación y una menor tasa de supervivencia condrocitaria (115, 116), sin embargo su aplicación clínica no ha sido peor que la de los aloinjertos frescos (117, 118).

Esterilización del aloinjerto

Desde que en 1992 Simonds y cols. (119) demostraron la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana adquirida (VIH) desde un donante seronegativo para dicho virus en un aloinjerto óseo, se ha cuidado especialmente rigurosa la seguridad de los aloinjertos en los bancos de huesos.



Fig. 5. Aloinjerto osteocondral criopreservado en defecto osteocondral de rodilla.

Tras la selección rigurosa del donante y la obtención de la pieza ósea en condiciones estériles adecuadas (96-98) con frecuencia se somete a las piezas a algún proceso de esterilización, que comprenden entre otros: la irradiación gamma, el óxido de etileno y el autoclavado. Uno de los gestos más comunes a todas estas técnicas durante la extracción o antes de su empleo en el huésped es el lavado de la pieza con diversas soluciones que contienen antibióticos, sin embargo, se ha demostrado que el lavado a baja presión con suero salino estéril puede ser más eficaz para eliminar las bacterias que pudieran contener (120).

Una de las grandes desventajas que introduce el empleo de estos procesos de esterilización es que de un modo u otro han demostrado que pueden interferir en las propiedades mecánicas y biológicas del injerto (121-123). Veremos algunos de estos aspectos por separado en referencia a las diferentes técnicas.

Irradiación gamma

Probablemente la esterilización con rayos gamma sea el método de esterilización más empleado en el mundo (124). Los rayos gamma destruyen eficazmente el riesgo de contaminación bacteriana y hepatitis (109); pero son menos eficaces en la destrucción del VIH. La dosis mínima eficaz a la que destruyen dicho virus es de 25 kGy (125, 126), pero se recomiendan dosis de al menos 30 kGy para su erradicación (127). Los priones y quizá otros virus podrían incluso ser aún más resistentes que el HIV (128).

Por otro lado, la irradiación gamma sobre los aloinjertos ha demostrado tener efectos deletéreos sobre las propiedades mecánicas y biológicas de los aloinjertos, y este efecto parece ser dosis-dependiente (104, 107, 129).

La dosis más frecuentemente empleada en la práctica oscila entre los 5 y 30 kGy aunque algunos bancos de huesos prefieren dosis más altas (102). Para el hueso cortical la irradiación gamma ha demostrado reducir las propiedades mecánicas referidas a su elasticidad, a su resistencia a la ruptura ante la torsión y ante la acción de doblarse (129, 130), e incluso su asociación con la liofilización parece reducir aún más estas propiedades mecánicas (131). Se ha demostrado que dosis de 27,5 kGy producen una mayor tenden-

cia a la producción y propagación de microfisuras en aloinjertos corticales (132).

Sin embargo, los aloinjertos las propiedades mecánicas del hueso esponjoso han demostrado una buena resistencia al efecto deletéreo de la irradiación gamma. Fragmentos de cresta ilíaca sometidos a dosis por encima de 20-25 kGy no alteran de forma significativa su módulo elástico, su resistencia a la compresión o a la fatiga (102, 109, 133); incluso algunos estudios se han publicado con dosis de hasta 51 kGy sin haber encontrado grandes modificaciones en las propiedades mecánicas de pequeños bloques de hueso esponjoso de tibia (134).

Óxido de etileno

El mecanismo de actuación del óxido de etileno como esterilizador de aloinjertos óseos es mediante la inactivación química de los microorganismos, incluyendo entre otros el HIV, y en general es considerado como mejor agente esterilizador que la radiación gamma para la descontaminación superficial (35).

Sin embargo, el empleo de óxido de etileno como medio para la esterilización de los injertos óseos es controvertido y en general es usado excepcionalmente por dos motivos principalmente (17, 122, 124). En primer lugar por la persistencia de gas residual en el tejido implantado que causa irritación (135-137) y alteraciones en la osmosis tisular (138) y, por otro lado, la obstaculización de la capacidad osteoconductora y la pérdida de capacidad osteoinductiva de los aloinjertos tratados de este modo (102, 139, 140), que en algunos casos ha sido involucrado en el fracaso de una técnica quirúrgica como la fusión posterior toracolumbar en escoliosis (141), que con otro tipo de aloinjerto ha tenido buenos o excelentes resultados (142-144).

Sin embargo, otros estudios contradicen estas afirmaciones. Por ejemplo Kearney y cols. no encontraron residuos tóxicos en la matriz de injertos óseos sometidos a esterilización con óxido de etileno (145); por su parte, Zhang y cols. no encontraron una pérdida de capacidad osteoinductiva en los injertos tratados de este modo (146); y algunos autores recomiendan determinados gestos como la aireación de los injertos, su conservación durante más de 15 días y su lavado para reducir la cantidad de óxido de etileno que por-

tan, para poder usar este tipo de aloinjertos óseos con mayor seguridad (147).

Autoclavado

Debido a las limitaciones expresadas para los métodos de esterilización mediante radiación a altas dosis o mediante óxido de etileno, se han desarrollado otras líneas de investigación (148), entre las que cabría destacar el autoclavado o tratamiento con calor de los aloinjertos desde los experimentos de Inokuchi y cols. (149) y Nakanishi y cols. (150) en los que demostraron la capacidad de inducir la formación ósea de los aloinjertos autoclavados (Fig. 6).

Las principales ventajas del aloinjerto autoclavado son: la alta sensibilidad del HIV y otros virus a las altas temperaturas (151, 152); la facilidad de empleo, que no requiere de complejas instalaciones como en el caso de la radiación

gamma (153); la posibilidad de mantener las inserciones tendinosas y musculares (154); la posibilidad de emplear de forma segura piezas con riesgo de infección por HIV, VHC, etc. (155); y aunque en nuestro medio no es importante, sí cabe destacar que en los países asiáticos, y por motivos religiosos y culturales, es muy difícil la obtención y el empleo de aloinjertos frescos congelados, siendo más factible el empleo de los autoclavados (153, 156).

Entre las limitaciones del empleo de los aloinjertos autoclavados podríamos destacar la ausencia de consenso sobre cuál es el mejor protocolo de tratamiento a emplear, así, la mayor parte de publicaciones hacen referencia a tratamientos de unos 135 °C entre unos 10 y 30 minutos (148, 156-162); sin embargo, otros autores prefieren el tratamiento de las piezas con temperaturas más bajas y que oscilan entre los 60 a 80 °C (122, 161, 163), habiendo demostrado que estas temperaturas mantienen la capacidad osteoinductiva (150, 164) y que no se afectan seriamente ni la revascularización ni la neoformación ósea (153). Incluso se ha visto que piezas de hueso cortical de vaca tratadas a 350 °C podrían constituir un excelente sustituto óseo para la carga de peso gracias al buen mantenimiento de sus propiedades mecánicas, cosa que no sucede cuando la temperatura se eleva hasta 700 °C (165). No existen estudios clínicos comparativos sobre el empleo de aloinjertos tratados a diferentes rangos de temperatura.

Otra de las limitaciones para el empleo de los aloinjertos óseos autoclavados es la pérdida de propiedades mecánicas tras la esterilización. Diversos estudios experimentales han demostrado, entre otros, alteraciones estructurales microscópicas que pueden provocar una pérdida de las mismas (160). De hecho, cuando se han estudiado propiedades como la resistencia al máximo estrés, el módulo de compresión, la rigidez del injerto o la energía de fracaso se han recogido pérdidas de estas propiedades que oscilan entre el 25 y el 70% (158, 159, 161). Por ello, generalmente se acepta que el empleo de aloinjertos autoclavados debe estar limitado a injertos no estructurales, habiéndose recogido excelentes resultados, por ejemplo en la cirugía protésica de cadera (166). Aún así, existen casos publicados con aceptables resultados tras aloinjertos autoclavados masivos tras resecciones tumorales (156).



Fig. 6. Pieza de aloinjerto sometido a esterilización mediante autoclave.

Otras técnicas

Otras técnicas de esterilización de los aloinjertos óseos han sido descritas y evaluadas, sin que ninguna de ellas haya sido usada de forma frecuente en la práctica clínica. Entre ellas cabría destacar el empleo de sustancias químicas como el ácido-etanol peracético validado recientemente y que ha demostrado ser capaz de inactivar incluso las esporas de *Aspergillus niger* (167), pero aún se carece de estudios experimentales sobre incorporación y propiedades mecánicas tras su empleo. El tetrahidrofurano también ha sido evaluado como método de esterilización químico para injertos óseos ya que no provoca grandes cambios en el comportamiento biomecánico de los mismos (159).

Otra técnica descrita es la desmineralización y la desinfección a bajas temperaturas con plasma (DEM-LTP), que ha mostrado una buena capacidad para la estimulación de la proliferación y diferenciación ósea (122).

Recientemente se ha descrito que el empleo de un horno de microondas doméstico en la esterilización de cabezas femorales de aloinjertos puede ser una opción útil, sencilla y barata, aunque aún no se han publicado estudios ni ensayos clínicos (168).

Conservación del aloinjerto

En la actualidad la mayor parte de bancos de huesos someten a sus piezas a alguno de los procesos de esterilización anteriormente descritos (35), y tras él, las piezas deben ser conservadas. El empleo de piezas únicamente sometidas a congelación a -80°C puede no ser suficiente para garantizar la esterilidad de la pieza. En un reciente estudio se ha publicado una tasa del 12% de cultivos positivos (la mitad eran *S. epidermidis*) en aloinjertos congelados empleados en cirugía de artrodesis vertebral, aunque sin un aumento en la tasa de infecciones quirúrgicas (169).

Existen dos métodos ampliamente empleados para la conservación de los aloinjertos óseos: la congelación, ya sea en congeladores eléctricos (-60° a -80°C) o en nitrógeno líquido (-160° a -180°C) y la liofilización (95).

Aloinjertos congelados

La congelación mediante congeladores eléctricos (-60° a -80°C) o en nitrógeno líquido

(-160° a -180°) no parece influir sobre las propiedades mecánicas o biológicas del aloinjerto (17, 170, 171). Sin embargo, cada una de estas técnicas requiere el empleo de diferentes infraestructuras. Así, el uso de nitrógeno líquido requiere su renovación periódica, mientras que cuando se emplean equipos de congelación es precisa la disponibilidad de equipos de suministro energético suplementarios (170).

Se ha demostrado que la congelación conserva la mayor parte de enzimas en casi todos los tejidos humanos sin afectar las propiedades mecánicas de los mismos (17, 35, 170). Además disminuye la antigenicidad del injerto (172) y la degradación del mismo por enzimas como la colagenasa o las proteinasas (35), sin embargo no está demostrado claramente que inactive los virus de la hepatitis o el HIV (173-175), o incluso algunas bacterias (169).

Un aspecto muy discutido en la literatura es el tiempo máximo de conservación de los aloinjertos congelados, y aunque existen variaciones, parece que el período recomendable como máximo se sitúa en torno a los tres años (173, 174, 176). Además, algunos bancos de huesos emplean sustancias criopreservantes como el dimetilsulfóxido para la crioprotección de los condrocitos de los aloinjertos osteocondrales (115, 116, 177).

La congelación se considera como el método idóneo para la conservación de los aloinjertos de mayor tamaño (109).

Algunos autores han empleado temperaturas más bajas, de unos -20°C , para la conservación de los aloinjertos, y en algunos casos han publicado resultados satisfactorios con esta técnica (Burwell, 1969 ID: 351); sin embargo, algunos estudios han demostrado como la conservación a este rango de temperatura puede provocar la liberación de factores favorecedores de la reabsorción ósea debido a la formación de cristales de hielo y a la activación de enzimas proteolíticas (176). Además se ha visto en un estudio con cultivo de osteoblastos que la conservación de las piezas a -20°C durante más de seis meses provoca importantes cambios en la respuesta de los osteoblastos, lo cual puede provocar alteraciones en su incorporación (178).

Aloinjertos liofilizados

La liofilización consiste en la eliminación del agua de un tejido previamente congelado (-30°C)

y su conservación al vacío (17). La principal ventaja como medio de conservación es que las piezas pueden ser almacenadas a temperatura ambiente por un tiempo indefinido siempre que el envase mantenga el vacío (170), además como la médula ósea y la sangre son eliminadas, disminuye el riesgo teórico de transmisión de enfermedades a través de la médula ósea (35).

Entre las desventajas que se describen para la conservación de los aloinjertos mediante la liofilización cabe destacar el impacto de la misma sobre las propiedades mecánicas del injerto, provocando una disminución de la resistencia a la torsión y al doblado, pero no a las fuerzas de compresión axial (16, 179, 180).

Seguridad de los aloinjertos

Desde 1982 la principal discusión sobre el empleo de aloinjertos ha estado centrada en la posibilidad de transmisión del VIH (155, 181), aunque otras infecciones, como la de los virus de la hepatitis B y C, no deben desestimarse, ya que hay casos descritos de transmisión de los mismos a través de los aloinjertos óseos (155, 182).

La principal dificultad para la detección de estas infecciones es que en el donante infectado existe un período inicial de viremia en el que los niveles de virus o de anticuerpos frente a estos virus sea indetectable para las pruebas diagnósticas disponibles (183, 184). Por ejemplo, los anticuerpos frente a hepatitis B o VIH pueden no ser detectables hasta cuatro semanas después del contagio (17, 185).

En 1989 se estimaba que el riesgo de obtener un aloinjerto de un donante HIV positivo no reconocido era de aproximadamente 1 por 1.600.000 donantes (186), y a pesar de que desde entonces la prevalencia de la enfermedad ha aumentado y las pruebas diagnósticas han mejorado con la inclusión de la reacción en cadena de la polimerasa, no parece que este riesgo haya disminuido desde entonces (105).

Desde 1980 se han recogido dos casos de transmisión del VIH como consecuencia del empleo de una pieza de aloinjerto óseo por el Centro de Control de Enfermedades de Estados Unidos (CDC) (119, 187). En el primer caso, una cabeza femoral de un donante sometido a artroplastia de cadera fue implantada a un paciente sometido a una artrodesis vertebral por escolio-

sis. El receptor desarrolló el síndrome de inmunodeficiencia adquirida. Si el donante hubiese estado sometido a los controles actuales de selección de donantes habría sido desestimado, basándose en la serología y en la historia previa de uso de drogas por vía parenteral y de linfadenopatía. El segundo caso lo constituye un donante multiorgánico que transmitió la enfermedad a los cuatro receptores de otros órganos y a tres de los cuatro receptores de aloinjertos musculoesqueléticos no procesados (ambas cabezas femorales y un injerto hueso-tendón-hueso patelar). Los otros 48 injertos musculoesqueléticos que fueron sometidos a procedimientos de procesamiento y conservación no transmitieron la enfermedad. Esto ilustra que la combinación de procedimientos de selección de los donantes y de procesamiento de las piezas puede eliminar prácticamente el riesgo de transmisión de enfermedades virales.

En cualquier caso, la mayor parte de autores parecen coincidir en que en la actualidad el riesgo para la transmisión de enfermedades virales en aloinjertos no procesados es muy bajo y se situaría en torno al uno por millón (17, 103, 105, 109, 155).

Otro aspecto importante es el de los cultivos positivos para bacterias en las piezas de aloinjerto óseo, es decir, cuando se produce una contaminación durante su extracción o procesamiento, en cuyo caso la recomendación generalizada y más sensata es la exclusión como implante (188, 189); sin embargo, recientemente se ha descrito la falta de implicación patogénica en los casos en que la contaminación y, por tanto, la positividad de los cultivos de las piezas de aloinjertos sucede durante su implantación, siendo los cultivos previos negativos, tanto en casos de fusiones vertebrales posteriores (190) como de plásticas de ligamento cruzado anterior (169).

Un aspecto importante y que no es frecuentemente abordado es la posibilidad de afectación del injerto por enfermedades tumorales como linfomas, plasmocitosis, etc. Por ello, Sugihara y cols. (191) analizaron histológicamente 137 cabezas femorales obtenidas de artroplastias de cadera y susceptibles de ser empaladas como aloinjerto. Encontraron alteraciones significativas en la histología de estas piezas en el 3,6% y por ello recomendaban el examen histológico de todas estas piezas para excluir las anómalas. Sin embargo, otros autores han publicado incidencias mucho menores, entre el 1,3 y el 0,7% (192, 193) y por

ello resulta dudoso que el estudio histológico sistemático de este tipo de piezas sea eficaz y rentable y en general no se realiza de forma habitual. Una línea actual de escaneo de las piezas y que puede tener una cierta incidencia para descartar la presencia de enfermedades óseas metabólicas es la realización de una biopsia ósea sistemática de cresta ilíaca en el momento de la obtención del aloinjerto (194).

Biología de los aloinjertos

La capacidad de estímulo biológico de los aloinjertos está determinada por la suma de su actividad biológica inherente (células vivas y sus productos), de su capacidad para estimular los tejidos circundantes, y de su capacidad para sostener el tejido que el huésped produce (17). El proceso de incorporación del aloinjerto está íntimamente relacionado con estos factores, pero casi nunca va a ser independiente de los factores mecánicos que analizaremos en otro apartado.

La mejor forma de analizar la respuesta que inducen los diferentes tipos de aloinjertos en el huésped es comparándola con la que producen los autoinjertos.

Injertos de esponjosa y de matriz ósea desmineralizada

La respuesta del huésped al autoinjerto de esponjosa ocurre en varias fases que se superponen y forman un continuo (17): tras la cirugía predominan los fenómenos de hemorragia e inflamación, muchas de las células del injerto mueren, en especial los osteocitos de las lagunas trabeculares, pero muchos de los osteoblastos de superficie sobreviven y son capaces de producir nuevo hueso rápidamente (195). Debido a la porosidad de la esponjosa, los vasos del huésped, los osteoblastos y sus precursores pueden infiltrar el injerto desde la periferia en menos de 48 horas (196). Según avanza la neovascularización del injerto, los osteoblastos comienzan a producir matriz osteoide mientras que los osteoclastos comienzan a reabsorber las trabéculas muertas; es el comienzo de la remodelación del injerto, que puede durar varios meses. Finalmente el injerto se integra en la estructura de soporte mecáni-

co del huésped aproximadamente al año de la cirugía (17).

El aloinjerto de matriz ósea desmineralizada además de mantener la capacidad osteoconductora puede ser moderadamente osteoinductor, aunque esta propiedad está íntimamente relacionada con las condiciones de procesamiento y almacenaje. Por ejemplo, su conservación a temperatura ambiente durante 24 horas antes del procesamiento provoca su inactivación biológica (197), o la esterilización mediante óxido de etileno o con radiación mayor de 2,5 Mrad pueden incluso limitar la capacidad osteoconductora (136, 137, 198). El aloinjerto de matriz ósea desmineralizada provoca en el huésped una respuesta diferente a la que despierta el autoinjerto, y se caracteriza inicialmente por fenómenos de agregación plaquetaria, formación de hematoma, inflamación y reclutamiento de polimorfonucleares en las primeras 18 horas. En los alrededores del injerto se agrupan células mesenquimales durante los cinco primeros días que posteriormente se diferencian en condrocitos que producen matriz cartilaginosa. Esta matriz se mineraliza, y en el 10-12.º día se inicia la invasión vascular acompañada por la colonización por células osteoblásticas a la vez que los condrocitos inician su degeneración. Desde este momento y hasta la integración completa se inician los fenómenos de remodelación ósea (17).

Los equivalentes al autoinjerto de esponjosa entre los aloinjertos son tanto el injerto de esponjosa como el aloinjerto triturado, ya sea de esponjosa o de cortical, cuya función es exclusivamente osteoconductora. La respuesta que provocan en el huésped transcurre también en varias fases, como para el autoinjerto, pero la principal diferencia es que estos aloinjertos no son osteoinductores, ya que no tienen células vivas. Según algunos autores (17) su reabsorción no es necesaria para su revascularización y, por tanto, no sufren mermas en su resistencia mecánica durante su incorporación, disminución que sí ocurre durante la incorporación de los autoinjertos.

Injertos corticales

Los autoinjertos no vascularizados de cortical proporcionan soporte mecánico, en cierto modo son osteogénicos y se revascularizan lentamente (195). Este retraso en la revascularización puede

ser explicado porque la penetración de las yemas vasculares es el resultado de la reabsorción osteoclástica periférica y de la invasión vascular de los canales de Havers y de Volkmann (199). Este tipo de injertos permanecen significativamente más débiles que el hueso normal durante muchos años dependiendo de su tamaño, a la vez que es frecuente encontrar grandes porciones de cortical muerta durante largos períodos (17, 195, 199).

En cuanto a los aloinjertos corticales o corticoesponjosos la respuesta inicial en el huésped es similar a la que despiertan otros injertos y se caracteriza por fenómenos de inflamación, de invasión vascular y migración de mediadores de la inflamación. Posteriormente, el injerto es penetrado lentamente por vasos y por hueso del huésped hasta un grado limitado (200). Si esta vascularización no es suficiente, el injerto puede fracturarse (200-203). Los aloinjertos de cortical son más débiles mecánicamente que los autoinjertos de cortical durante largos períodos de tiempo, aunque en condiciones de estabilidad mecánica y de carga de peso la mayor parte estos aloinjertos tienen un comportamiento mecánico y estructural similar a los autoinjertos a pesar de que mantienen más cantidad de hueso necrótico (204). También el modo de procesamiento del aloinjerto parece modificar la respuesta del huésped; por ejemplo, el hueso cortical sometido a esterilización por autoclave puede ser revascularizado, aunque lentamente, casi por completo (205).

Inmunología de los aloinjertos

Numerosos estudios en animales han demostrado que los aloinjertos óseos procesados inducen una respuesta inmune específica, especialmente celular, detectable tanto sistémica (17, 206-211), como localmente (35, 212); sin embargo los estudios realizados en humanos han mostrado resultados variables en cuanto a la positividad o negatividad de esta respuesta inmune en el huésped (213-218). Otros estudios en perros (212, 219) y en humanos (220) han demostrado la producción de anticuerpos específicos para antígenos leucocitarios del donante en trasplantes no compatibles. Por otro lado, se ha visto que hasta en el 67% de las ocasiones se produce una sen-

sibilización frente a antígenos de clase I y/o II en humanos receptores de aloinjertos óseos (221). Estos dos aspectos parecen indicar que el aloinjerto óseo despierta en el huésped una respuesta inmunológica que en determinadas circunstancias podría estar involucrada, al menos en teoría, en los fenómenos de reabsorción del injerto.

En algunos pacientes el grado de compatibilidad antigénica del aloinjerto y el huésped puede afectar la histología (216, 222) y la radiología (211) de su incorporación; incluso se ha visto que esta falta de compatibilidad puede afectar a los resultados clínicos del mismo mediante la activación de una respuesta con linfocitos T citotóxicos (223).

Sin embargo, los diversos estudios publicados reflejan una gran variabilidad en cuanto a la respuesta tanto humoral como celular que despiertan los antígenos del donante en el receptor, así como una muy variable repercusión sobre la incorporación de los mismos (17, 220, 224-229). Por otro lado, parece existir una cierta evidencia de que la respuesta inmunológica puede ser más importante a largo plazo porque puede tener una relación con la remodelación del hueso injertado y con la aparición de complicaciones tardías como las fracturas o la infección (172, 200, 209, 219, 230, 231), lo cual podría verse refrendado por el hecho de que los autoinjertos siempre han mostrado unos mejores resultados que los aloinjertos, aunque sus causas aún no están muy claras. En cualquier caso, los aloinjertos no vascularizados no poseen un árbol vascular ni células vivas, que son el objetivo habitual de la respuesta de rechazo a los trasplantes, y este aspecto influye notablemente en la variabilidad de la respuesta de rechazo a los aloinjertos óseos (232): Incluso en un modelo de aloinjerto vascularizado en ratas se ha podido determinar que no existen variaciones a largo plazo en cuanto a la incorporación del aloinjerto a pesar del empleo de inmunosupresión prolongada (233).

De todos modos, en la actualidad la implantación de aloinjertos no histocompatibles se ha mostrado como una técnica de resultados satisfactorios y no parece estar justificado cambiar las indicaciones de los mismos aunque la tendencia es que en el futuro y gracias a la creación de redes de conexión entre bancos de huesos se puedan mejorar las condiciones de histocompatibilidad de las piezas injertadas (95, 101).

BIBLIOGRAFÍA

1. SANCHÍS OLMOS V. El banco de huesos del Hospital Provincial de Madrid. *Acta Ortop Traumatol Ibérica*. 1953; 1: 3-22.
2. NOLAN P C. Living bone grafts. *BMJ*. 1992; 304: 1520-1521.
3. SOLOMON J. Bone grafts. *J Bone Joint Surg Br*. 1991; 73: 706-707.
4. FRIEDLANDE, G E. Bone grafts. The basic science rationale for clinical applications. *J Bone Joint Surg Am*. 1987; 69 (5): 786-790.
5. ILIZAROV G A, LEDYAEV V I. The classic: The replacement of long tubular bone defects by lengthening distraction osteotomy of one of the fragments. *Clin Orthop*. 1992; 280: 7-10.
6. DAGHER F, ROUKOZ S. Compound tibia fractures with bone loss treated by the Ilizarov technique. *J Bone Joint Surg Br*. 1991; 73-B: 316-321.
7. NAGGAR L, CHEVALLEY F, BLANC C H, LIVIO J J. Treatment of large bone defects with the Ilizarov technique. *J Trauma*. 1993; 34: 390-393.
8. PALEY D. Current techniques of limb lengthening. *J Pediatr Orthop*. 1988; 8: 73-92.
9. PALEY D. Problems, obstacles and complications of limb lengthening by the Ilizarov technique. *Clin Orthop*. 1990; 250: 81-104.
10. PEDERSON W C, SANDERS W E. *Bone and soft-tissue reconstruction. Rockwood and Green's Fractures in Adults*. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1996; 4.ª ed, pp 353-423.
11. BUCKWALTER J A, GLIMCHER M J, COOPER R R, RECKER R. Bone biology. I: Structure, blood supply, cells, matrix, and mineralization. *Instr Course Lect*. 1996; 45: 371-386.
12. BUCKWALTER J A, GLIMCHER M J, COOPER R R, RECKER R. Bone biology. II: Formation, form, modeling, remodeling, and regulation of cell function. *Instr Course Lect*. 1996; 45: 387-399.
13. BURCHARDT H. The biology of bone graft repair. *Clin Orthop*. 1983 Apr; 108 (174): 28-42.
14. BASSET C A L. Clinical implications of cell function in bone grafting. *Clin Orthop*. 1972; 87: 49-59.
15. BONFIGLIO M. Repair of bone-transplant fractures. *J Bone Joint Surg Am*. 1958; 40 A: 446-456.
16. GRAY J C, ELVES M W. Early osteogenesis in compact bone isografts; A quantitative study of the contributions of the different graft cells. *Calcif Tissue Int*. 1979; 29: 225-237.
17. STEVENSON S. Biology of Bone Grafts. *Orthop Clin North Am*. 1999; 30 (4): 543-552.
18. FRIEDLANDER G E. Current concepts review: Bone grafts. *J Bone Joint Surg Am*. 1987; 69-A: 786-790.
19. BARRERE F, VAN DER VALK C M, DALMEIJER R A, MEIJER G, VAN BLITTERSWIJK C A, DE GROOT K, LAYROLLE P. Osteogenicity of octacalcium phosphate coatings applied on porous metal implants. *J Biomed Mater Res*. 2003; 66: 779-788.
20. MEINEL L, KARAGEORGIU V, FAJARDO R, SNYDER B, SHINDE-PATIL V, ZICHNER L, KAPLAN D, LANGER R V. Bone tissue engineering using human mesenchymal stem cells: effects of scaffold material and medium flow. *Ann Biomed Eng*. 2004; 32: 112-122.
21. HARRIS C T, COOPER L F. Comparison of bone graft matrices for human mesenchymal stem cell-directed osteogenesis. *J Biomed Mater Res*. 2004; 68: 747-755.
22. BOLANDER M E, BALIAN G. The use of demineralized bone in the repair of segmental defects. *J Bone Joint Surg Am*. 1986; 68-A: 1264-1274.
23. LEWANDROWSKI K U, TOMFORD W W, SCHOMACKER K T, DEUTSCH T F, MANKIN H J. Improved osteoinduction of cortical bone allografts: a study of the effects of laser perforation and partial demineralization. *J Orthop Res*. 1997; 15 (5): 748-756.
24. LIN K Y, BARTLETT S P, YAREMCHUK M J, FALLON M, GROSSMAN R F, WHITAKER L A. The effect of rigid fixation on the survival of onlay bone grafts: an experimental study. *Plast Reconstr Surg*. 1990; 86 (3): 449-456.
25. KALE A A, DICESARE P E. Osteoinductive agents: Basic science and clinical applications. *Am J Orthop*. 1995; 24: 752-761.
26. MOHAN S, BAYLINK D J. Bone growth factors. *Clin Orthop*. 1991; 263: 30-48.
27. VICARIO C. El efecto osteoinductor de la matriz de los aloinjertos. Estudio experimental en cultivo de osteoblastos humanos (Tesis Doctoral). Madrid, 2003.
28. FUJIBAYASHI S, NEO M, KIM H M, KOKUBO T, NAKAMURA T. Osteoinduction of porous bioactive titanium metal. *Biomaterials*. 2004; 25: 443-450.
29. STEVENSON S, LI X Q, DAVY D T, KLEIN L, GOLDBERG V M. Critical biological determinants of incorporation of non-vascularized cortical bone grafts. Quantification of a complex process and structure. *J Bone Joint Surg Am*. 1997; 79 (1): 1-16.
30. LEUNIG M, YUAN F, BERK D A. Angiogenesis and growth of isografted bone: quantitative in vivo assay in nude mice. *Lab Invest*. 1994; 71: 300-307.
31. YOUNGER E M, CHAPMAN M W. Morbidity at bone graft donor sites. *J Orthop Trauma*. 1989; 3: 192-195.
32. COCKIN J. Autologous bone grafting: complications at the donor site. *J Bone Joint Surg Br*. 1971; 53: 153.
33. WEIKEL A M, HABAL M B. Meralgia paraesthetica: a complication of iliac bone procurement. *Plast Reconstr Surg*. 1977; 60: 572-574.
34. BOONE D W. Complications of iliac crest graft and bone grafting alternatives in foot and ankle surgery. *Foot Ankle Clin*. 2003; 8: 1-14.
35. ARO H T, AHO A J. Clinical use of bone allografts. *Ann Med*. 1993 Aug; 25 (4): 403-412.
36. NICOLL E A. The treatment of gaps in long bones by cancellous insert grafts. *J Bone Joint Surg Br*. 1956; 38-B: 70-82.
37. WEBER B G, D CECH O. Pathophysiology, biomechanics, therapy, results. *Pseudoarthrosis*. New York: Grune & Stratton, 1976; pp 1-60.

38. DAVIS A G. Fibular substitution for tibial defects. *J Bone Joint Surg Am.* 1944; 25-A: 229-237.
39. CHACHA P B. Vascularized pedicular bone grafts. *Int Orthop.* 1984; 8: 117-138.
40. DAVIS J B. The muscle-pedicle bone graft in hip fusion. *J Bone Joint Surg Am.* 1954; 36-A: 790-799.
41. KUHLMANN J N, MIMOUN M, BOABIGHI A, BAUX S. Vascularized bone graft pedicled on the volar carpal artery for non-union of the scaphoid. *J Hand Surg [Br].* 1987; 12 (2): 203-210.
42. TAYLOR G I, MILLER G D, HAM F J. The free vascularized bone graft. A clinical extension of microvascular techniques. *Plast Reconstr Surg.* 1975 May; 55 (5): 533-544.
43. YODAS J W, WOOD M B, CAHALAN T D, CHAO E Y. A quantitative analysis of donor site morbidity after vascularized fibula transfer. *J Orthop Res.* 1988; 6: 621-629.
44. BUCHOLZ R W. Nonallograft osteoconductive bone graft substitutes. *Clin Orthop.* 2002; 395: 44-52.
45. KELLY C M, WILKINS R M, GITELIS S, HARTJEN C, WATSON J T, KIM P T. The use of a surgical grade calcium sulfate as a bone graft substitute: results of a multicenter trial. *Clin Orthop.* 2001: 382, 42-50.
46. SHORS E. Bone graft substitutes: Clinical studies using coralline hydroxiapatite biomaterials in surgery. F C Bakker (ed), *Walenkamp GHIM.* Stuttgart: George Thieme Verlag, 1998; pp 83-89.
47. CHAPMAN M, BUCHOLZ R W, CORNELL C. Treatment of acute fractures with a collagen calcium phosphate graft material: A randomized clinical trial. *J Bone Joint Surg Am.* 1997; 79-A: 495-502.
48. CORNELL C N, LANE J M, CHAPMAN M, MERKOW R, SELIGSON D, HENRY S, GUSTILO R, VINCENT K. Multicenter trial of Collagraft as bone graft substitute. *J Orthop Trauma.* 1991; 5: 1-8.
49. GOLDBERG V M, STEVENSON S. Natural history of autografts and allografts. *Clin Orthop.* 1987; 225: 7-16.
50. HOLMES R, BUCHOLZ R W, MOONEY V. Porous hydroxiapatite as a bone graft substitute in metaphyseal defects: A histometric study. *J Bone Joint Surg Am.* 1986; 68-A: 904-911.
51. SHORS E, HOLMES R. Bone formation in porous hydroxiapatite obtained from human biopsies. *Bio-ceramics.* 1993; 6: 375-379.
52. ALBEE F H, MORRISON H F. Studies in bone growth: Triple calcium phosphate as a stimulus to osteogenesis. *Ann Surg.* 1920; 71: 32-36.
53. CLARK A E, HENCH L L, PASCHAL H A. The influence of surface chemistry on implant interface histology: A theoretical basis for implant material selection. *J Biomed Mater Res.* 1976; 10: 161-174.
54. GRUNDEL R, CHAPMAN M, YEE T, MOORE D. Autogenic bone marrow and porous biphasic calcium phosphate ceramic for segmented defects in the canine ulna. *Clin Orthop.* 1991; 266: 244-258.
55. MOORE D, CHAPMAN M, MARSKE D. The evaluation of a biphasic calcium phosphate ceramic for use in grafting long bone defects. *J Orthop Res.* 1987; 5: 356-365.
56. BLAHA D. Calcium sulfate bone-void filler. *Orthopedics.* 1998; 21: 1017-1019.
57. GITELIS, S. Use of calcium sulfate-based bone graft substitute for benign bone lesions. *Orthopedics.* 2001; 24: 244-258.
58. BAUER T W, MUSCHLER G F. Bone graft materials. An overview of the basic science. *Clin Orthop.* 2000 Feb; 2 (371): 10-27.
59. NORMAN-TAYLOR F H, SANTORI N, VILLAR R N. The trouble with bone allograft. *BMJ.* 1997 Aug 30; 315 (7107): 498.
60. WARWICK R M, EASTLAND T, FEHILY, D. Role of blood transfusion service in tissue banking. *Vox Sanguinis.* 1996; 71: 71-77.
61. RINALDI E. The first homoplastic limb transplant according to the legend of Saint Cosmas and Saint Damian. *Ital J Orthop Traumatol.* 1987; 13, 394-406.
62. VAN MEEKEREN J. *Heel en geneeskunstige aanmerkingen.* Amsterdam: Commelijin, 1668.
63. OLLIER L. *Traité experimental et clinique de la regeneration des os et de la production artificielle du tissu osseuz.* Paris: Masson, 1867.
64. MACEWEN W. Observations concerning transplantation of bones: Illustrated by a case of inter-human osseus transplantation, whereby over two thirds of the shaft of the humerus was restored. *Proc Royal Soc London.* 1881; 32: 232-234.
65. LEXER E. Die verwendung der freien knochenplastik nebst versuchen uber gelenkversteifung & gelenktransplantation. *Art Klin Chir.* 1908; 86: 939-954.
66. LEXER E. Joint transplantation and arthroplasty. *Surg Gynec Obstet.* 1925; 40: 782-809.
67. ALBEE F H. The fundametal principles involved in the use of the bone graft in surgery. *Am J Med Sci.* 1915; 149: 313-325.
68. TUFFIER T. Des graffes de cartilage et dós humain dans les resections articulaires. *Bull Mem Soc Chir Paris.* 1911; 37: 278-286.
69. TUFFIER T. Sur les graffes osteo articulailres. *Bull Mem Soc Chir Paris.* 1913; 39: 1078-1096.
70. BAUER H. Ueber knochentransplantation. *Zentrabl Chir.* 1910; 37: 20-21.
71. CARREL A. The preservation of tissues and its application in surgery. *JAMA.* 1912; 59: 523-527.
72. INCLÁN A. The use of preserved bone graft in orthopaedic surgery. *J Bone Joint Surg Am.* 1942; 24-A: 81-92.
73. WILSON P D. Experience with a bone bank. *Ann Surg.* 1947; 26: 932-946.
74. GONZÁLEZ C (ed). *El Banco Nacional de Huesos.* Madrid, 1956.
75. ORTIZ-CRUZ E J. Comentario. El Banco de Huesos del Hospital Clínico Provincial. *Revista de Ortopedia y Traumatología.* 2002; 46 (2): 110-114.
76. CURTIS P H, POWELL A E, HERNDON C. H. Immunological factors in homogeneous bone transplantation. The inability of homogeneous rabbit bone to induce circulating antibodies in rabbits. *J Bone Joint Surg Am.* 1959; 41-A: 1482-1488.

77. HERNDON C H, CHASE S W. The fate of massive autogenous and homogenous bone graft including articular surfaces. *Surg Gynec Obstet.* 1954; 98: 273-290.
78. OTTOLENGHI C E. Massive osteoarticular bone grafts. *J Bone Joint Surg Br.* 1966; 48-B: 646-659.
79. VOLKOV M. Allograft transplantation of joints. *J Bone Joint Surg Br.* 1970; 52-B: 49-53.
80. PARRISH F F. Allograft replacement of part of the end of a long bone following excision of a tumor. *J Bone Joint Surg Am.* 1973; 55-A: 1-22.
81. GHAZAVI M T, STOCKLEY I, YEE G, DAVIS A, GROSS A E. Reconstruction of massive bone defects with allograft in revision total knee arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am.* 1997; 79 (1): 17-25.
82. BUTTERMANN G R, GLAZER P. A, BRADFORD D S. The use of bone allografts in the Spine. *Clin Orthop.* 1996 Mar; 17 (324): 75-85.
83. LEOPOLD S S, JACOBS J J, ROSENBERG A G. Cancellous allograft in revision total hip arthroplasty. *Clin Orthop.* 2000 Feb; 2 (371): 86-97.
84. VACCARO A R, CIRELLO J. The use of allograft bone and cages in fractures of the cervical, thoracic and lumbar spine. *Clin Orthop.* 2002; 394: 19-26.
85. MALLOY K M, HILIBRAND A S. Autograft versus allograft in degenerative cervical disease. *Clin Orthop.* 2002; 394: 27-38.
86. MANKIN H J, ORTIZ-CRUZ E J, BIBILONI J. Resultados a largo plazo y futuro de los trasplantes con aloinjertos óseos. *Revista de Ortopedia y Traumatología.* 1996; 40: 556-561.
87. KLEINSTUECK F S, HU S S, BRADFORD D S. Use of allograft femoral rings for spinal deformity in adults. *Clin Orthop.* 2002; 394: 84-91.
88. SINGH K, DEWALD C J, HAMMERBERG K W, DEWALD R L. Long structural allografts in the treatment of anterior spinal column defects. *Clin Orthop.* 394: 121-129.
89. KUOKKANEN H, RATY S, KORKALA O, NISKANEN R, SYRJANEN K J. Osteosynthesis and allogeneic bone grafting in complex osteoporotic fractures. *Orthopedics.* 2001; 24 (3): 249-252.
90. SHIH H N, CHEN Y J, HUANG T J, HSU K Y, HSU R W. Semistructural allografting in bone defects after curettage. *J Surg Oncol.* 1998; 68 (3): 159-165.
91. MANKIN H J, GEBHARDT M C, JENNINGS L C, SPRINGFIELD D S, TOMFORD W W. Long-term results of allograft replacement in the management of bone tumors. *Clin Orthop.* 1996 Mar; 527 Pt 2 (324): 86-97.
92. CHOONG P F. The role of allografts in tumour surgery. *Acta Orthop Scand.* 1997; Suppl Feb, 273: 89-94.
93. DONATI D, DI LIDDO M, ZAVATTA M, MANFRINI M, BACCI G, PICCI P, CAPANNA R, MERCURI M. Reconstrucción con aloinjerto óseo masivo en el osteosarcoma de alto grado. *Clin Orthop.* (selección artículos en español), 2001; 3 (1): 46-54.
94. STEVENSON S. Enhancement of fracture healing with autogenous and allogeneic bone grafts. *Clin Orthop.* 1988 Oct; 17 (355 Suppl): S239-S246.
95. ORTIZ-CRUZ E J, CAMPO LOARTE J, MARTÍNEZ MARTÍN J, CANOSA SEVILLANO R. Estructura y organización de un banco de huesos y tejidos. *Revista de Ortopedia y Traumatología.* 2000; 44, 127-138.
96. Asociación Española de Bancos de Tejidos. *Estándares*, 1999.
97. American Association of Tissue Banks. *Standards for tissue banking*, 1992.
98. European Association of Tissue Banks. *General Standards for Tissue Banking*, 1995.
99. FDA, Center for Biologics Evaluation and Research. *Screening and testing of donors of human tissue intended for transplantation*. Washington, DC: FDA, 1997.
100. SEGUR VILALTA J M, SUSO VERGARA S, GARCÍA RAMIRO S, COMBALÍA ALEU A, RAMÓN SOLER R. Factores de contaminación de los aloinjertos óseos. *Revista de Ortopedia y Traumatología.* 1997; 41: 564-567.
101. TOMFORD W W, MANKIN H J. Bone banking. Update on methods and materials. *Orthop Clin North Am.* 1999; Oct; 30 (4): 565-570.
102. BOYCE T, EDWARDS J, SCARBOROUGH N. Allograft bone. The influence of processing on safety and performance. *Orthop Clin North Am.* 1999 Oct; 30 (4): 571-581.
103. MICHAUD R J, DRABU K J. Bone allograft banking in the United Kingdom. *J Bone Joint Surg Br.* 1994 May, 76 (3): 350-351.
104. JINNO T, MIRIC A, FEIGHAN J, KIRK S K, DAVY D T, STEVENSON S. The effects of processing and low dose irradiation on cortical bone grafts. *Clin Orthop.* 2000; 375: 275-285.
105. BUCK B E, MALININ T I. Human bone and tissue allografts. Preparation and safety. *Clin Orthop.* 1994 Jun; 50 (303): 8-17.
106. CANADELL J, CORNEJO F. The bone bank of the University Clinic in Navarra. *Rev Med Univ Navarra.* 1987; 31 (4): 239-246.
107. URIST M R, HERNÁNDEZ A. Excitation transfer in bone. Deleterious effects of cobalt 60 radiation-sterilization of bank bone. *Arch Surg.* 1974; 109: 486-493.
108. HENDRICH C, NÖTH U, STAHL U, MERKLEIN F, RADER C P, SCHÜTZE N, THULL R, TUAN R S, EULERT J. Testing of skeletal implant surfaces with human fetal osteoblasts. *Clin Orthop.* 2002; 394: 278-289.
109. KASSER J R. *Reparación e injertos óseos. (Actualizaciones en Cirugía Ortopédica y Traumatología (Orthopaedic Knowledge Update 5))*. Barcelona: Masson, 1997; pp 24-27.
110. CONVERY F R, MEYERS M H, AKESON W H. Fresh osteochondral allografting of the femoral condyle. *Clin Orthop.* 1991; 273: 139-145.
111. MEYERS M H, AKESON W H, CONVERY F R. Resurfacing of the knee with fresh osteochondral allograft. *J Bone Joint Surg Am.* 1989; 71-A: 704-713.
112. GARRETT J C. Fresh osteochondral allografts for treatment of articular defects in osteochondritis dis-

- secans of the lateral femoral condyle in adults. *Clin Orthop*. 1994; 303: 33-37.
113. BUGBEE W D. Fresh osteochondral allografts. *J Knee Surg*. 2002; 15: 191-195.
 114. SHASHA N, KRYWULAK S, BACKSTEIN D, PRESSMAN A, GROSS A E. Long-term follow-up of fresh tibial osteochondral allografts for failed tibial plateau fractures. *J Bone Joint Surg Am*. 2003; 85-A (Suppl 2): 33-39.
 115. MARCO F, LEÓN C, LÓPEZ-OLIVA F, PÉREZ A J, SÁNCHEZ-BARBA A, LÓPEZ-DURÁN L. Intact articular cartilage cryopreservation. In vivo evaluation. *Clin Orthop*. 1992; 283: 11-20.
 116. EGLI R J, SCKELL A, FRUITZL C R, FELIX R, GANZ R, HOFSTETTER W, LEUNIG M. Cryopreservation with dimethyl sulfoxide sustains partially the biological function of osteochondral tissue. *Bone*. 2003; 33: 352-361.
 117. MARCO F, LÓPEZ-OLIVA F, FERNÁNDEZ FERNÁNDEZ-ARROYO J M, DE PEDRO J A, PÉREZ A J, LEÓN C, LÓPEZ-DURÁN L. Osteochondral allografts for osteochondritis dissecans and osteonecrosis of the femoral condyles. *Int Orthop*. 1993; 17: 104-108.
 118. BAKAY A, CSONGE L, PAPP G, FEKETE L. Osteochondral resurfacing of the knee joint with allograft. Clinical analysis of 33 cases. *Int Orthop*. 1998; 22 (5): 277-281.
 119. SIMONDS R J, HOLMBERG S D, HURWITZ R L, COLEMAN T R, BOTTENFIELD S, CONLEY L J, KOHLENBERG S H, CASTRO K G, DAHAN B A, SCHABLE C, A. Transmission of human immunodeficiency virus type-1 from a seronegative organ and tissue donor. *N Engl J Med*. 1992; 326: 726-732.
 120. HIRN M, LAITINEN M, PIKKALAINEN S, VUENTO R. Cefuroxime, rifampicin and pulse lavage in decontamination of allograft bone. *J Hosp Infect*. 2004; 56: 198-201.
 121. BOYNE P J. Review of the literature on cryopreservation of bone. *Cryobiology*. 1968; 4: 341-357.
 122. HOFFMAN A, HOFFMAN C, GOTZEN L. Effect of various bone disinfection and sterilization methods on osteoblast function. A comparative in vitro study. *Unfallchirurg*. 2000 May; 103: 380-388.
 123. HALLFELDT K K, KESSLER S, PUHLMANN M, MANDELKOW H, SCHWEIRBERE, L. The effect of various sterilization procedures on the osteoinductive properties of demineralized bone matrix. *Unfallchirurg*. 1992; 95 (7): 313-318.
 124. NORMAN-TAYLOR F H, VILLAR R N. Bone allograft: a cause for concern? *J Bone Joint Surg Br*. 1997; Mar; 79 (2): 178-180.
 125. CAMPBELL D G, LI P, STEPHENSON A J, OAKES-HOTT R. D. Sterilization of HIV by Gamma irradiation: A bone allograft model. *Int Orthop*. 1994; 18: 172-176.
 126. SMITH R A, INGELS J, LOCHEMES J J, DUTKOWSKY J P, PIFER L L. Gamma irradiation of HIV-1. *J Orthop Res*. 2001; 19 (5): 815-819.
 127. FIDELER B M, VANGSNESS C T, LI Z, RASHEED S. Effects of gamma irradiation on the human immunodeficiency virus: a study in frozen human bone-patellar ligament-bone grafts obtained from infected cadavera. *J Bone Joint Surg Am*. 1994; 76-A: 1032-1035.
 128. GIBBS C J Jr, GAJDUSEK D C, LATARJET R. Unusual resistance to ionising radiation of the viruses of kuru, Creutzfeldt-Jacob and scrapie. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1978; 75: 6268-6270.
 129. CURREY J D, FOREMAN J, LAKETIC I, MITCHELL J, PEGG D E, REILLY G, C. Effects of ionizing radiation on the mechanical properties of human bone. *J Orthop Res*. 1997; 15 (1): 111-117.
 130. HAMER A J, STRACHAN J R, BLACK M M, IBBOTSON C J, STOCKLEY I, ELSON R, A. Biochemical properties of cortical allograft bone using a new method of bone strength measurement. A comparison of fresh, fresh-frozen and irradiated bone. *J Bone Joint Surg Br*. 1996; 78-B, 363-368.
 131. TRIANTAFYLLOU N, SOTIROPOULOUS E, TRIANTAFYLLOU J N. The mechanical properties of lyophilized and irradiated bone grafts. *Acta Orthop Belg*. 1975; 41 (supl 1): 35-44.
 132. AKKUS O, RIMNAC C M. Fracture resistance of gamma radiation sterilized cortical bone allografts. *J Orthop Res*. 2001; 19: 927-934.
 133. ZHANG Y, HOMSI D, GATES K, OAKES K, SUTHERLAND V, WOLFINBARGER L Jr. A comprehensive study of physical parameters, biomechanical properties and statistical correlations of iliac crest bone wedges used in spinal fusion surgery: IV. Effect of Gamma irradiation on mechanical and material properties. *Spine*. 1994; 19: 304-308.
 134. ANDERSON M J, KEYAK J H, SKINNER H B. Compressive mechanical properties of human cancellous bone after Gamma irradiation. *J Bone Joint Surg Am*. 1992; 74-A: 747-752.
 135. JACKSON D W, WINDLER G E, SIMON T M. Intraarticular reaction associated with the use of freeze-dried, ethylene oxide-sterilized bonepatella tendon-bone allografts in the reconstruction of the anterior cruciate ligament. *Am J Sports Med*. 1990; 18: 1-11.
 136. MUNTING E, WILMART J F, WIJNE A, HENNEBERT P, DELLOYE C. Effect of sterilization on osteoinduction. Comparison of five methods in demineralized rat bone. *Acta Orthop Scand*. 1988; 59: 34-38.
 137. THOREN K, ASPENBERG P. Ethylene oxide sterilization impairs allograft incorporation in a conduction chamber. *Clin Orthop*. 1995; 318: 259-264.
 138. PROLO D J, PEDROTTI P W, WHITE D H. Ethylene oxide sterilization of bone, dura matter and fascia lata for human transplantation. *Neurosurgery*. 1980; 6: 529-539.
 139. ASPENBERG P, LINDQVIST S B. Ethene oxide and bone induction. Controversy remains. *Acta Orthop Scand*. 1998; 69 (2): 173-178.
 140. DOHERTY M J, MOLLAN R A, WILSON D J. Effect of ethylene oxide sterilization on human demineralized bone. *Biomaterials*. 1993; 14 (13): 994-998.
 141. HERRON L D, NEWMAN M A. The failure of ethylene oxide gas-sterilized freeze-dried bone graft for

- thoracic and lumbar spine fusion. *Spine*. 1989; 14: 496-500.
142. BRIDWELL K H, O'BRIEN M, LENKE L G, BALDUS C, BLANKE K. Posterior spinal fusion supplemented with only allograft bone in paralytic scoliosis. *Spine*. 1994; 19: 2658-2658.
 143. KNAPP D R Jr, JONES E T. Use of cortical cancellous allograft for posterior spinal fusion. *Clin Orthop*. 229: 99-106.
 144. MCCARTHY R E, PEEK R D, MORRISY R J, HOUGH A J. Allograft bone in spinal fusion for paralytic scoliosis. *J Bone Joint Surg Am*. 1986; 68-A: 370-375.
 145. KEARNEY J N, BOJAR R, HOLLAND K T. Ethylene oxide sterilisation of allogenic bone implants. *Clin Mater*. 1993; 12 (3): 129-135.
 146. ZHANG Q, CORNU O, DELLOYE C. Ethylene oxide does not extinguish the osteoinductive capacity of demineralized bone. A reappraisal in rats. *Acta Orthop Scand*. 1997; 68 (2): 104-108.
 147. KAKU N, TSUMURA H, KATAOKA M, TAIRA H, TORISU T. Influence of aeration, storage, and rinsing conditions on residual ethylene oxide in freeze-dried bone allograft. *J Orthop Sci*. 2002; 7: 238-242.
 148. KUNER E H, SCHLICKWEI W, HUBER-LANG M, SCHAEFER D J, LAUBENBERGER J. Using autoclaved spongiosa. *Unfallchirurg*. 1998 Nov; 101: 870-876.
 149. INOKUCHI T, NINOMIYA H, HIRONAKA R, YOSHIDA S, ARAKI M, SANO K. Studies on heat treatment for immediate reimplantation of resected bone. *J Craniomaxillofac Surg*. 1991; 19: 31-39.
 150. NAKANISHI K, SATO K, SATO T, TAKAHASHI M, FUKAYA N, MIURA T. Preservation of bone morphogenetic protein in heat-treated bone. *Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi*. 1992; 66 (9): 949-955.
 151. MCDUGAL J S, MARTIN L S, CORT S P, MOZEN M, HELDEBRANT C M, EVATT B L. Thermal inactivation of the acquired immunodeficiency syndrome virus, human T lymphotropic virus-III/lymphadenopathy-associated virus, with special reference to antihemophilic factor. *J Clin Invest*. 1985; 76: 875-877.
 152. SPIRE B, DORMONT D, BARRE-SINOUSSE F, MONTAGNIER L, CHERMANN J C. Inactivation of lymphadenopathy-associated virus by heat, gamma rays, and ultraviolet light. *Lancet*. 1985; 26: 188-189.
 153. SHIMIZU K, MASUMI S, YANO H, FUKUNAGA T, IKEBE S, SHIN S. Revascularization and new bone formation in heat-treated bone grafts. *Arch Orthop Trauma Surg*. 1999; 119: 57-61.
 154. SUGIORA H, SATO K, MIURA T, NAKANISHI K, RONG Y. Tendon insertions onto allografts pretreated with heat and/or bone surface demineralization. *Clin Orthop*. 1993; 66: 289-294.
 155. TOMFORD W W. Transmission of disease through transplantation of musculoskeletal allografts. *J Bone Joint Surg Am*. 1995; 77-A, 1742-1753.
 156. ASADA N, TSUCHIYA H, KITAOKA K, MORI Y, TOMITA K. Massive autoclaved allografts and autografts for limb salvage surgery. *Acta Orthop Scand*. 1997; 68 (4): 392-395.
 157. SCHRATT H E, D SPYRA J L. Experimental studies of healing and antigenicity of sterilized bone transplants. *Chirurg*. 1997 Jan; 68: 77-83.
 158. VICECONTI M, TONI A, BRIZIO L, RUBBINI L, BORRELLI A. The effect of autoclaving on the mechanical properties of bank bovine bone. *Chir Organi Mov*. 1996; 81: 63-68.
 159. VOGGENREITER G, ASCHERL R, FRUH H J, BLUMEL G, SCHMIT-NEUERBURG K P. Preservation and sterilization of cortical bone biomechanical studies in the rat. *Unfallchirurg*. 1995; 98 (2): 53-58.
 160. VOGGENREITER G, ASCHERL R, BLUMEL G, SCHMIT-NEUERBURG K P. Effects of preservation and sterilization on cortical bone grafts. A scanning electron microscopic study. *Arch Orthop Trauma Surg*. 1994; 113 (5): 294-296.
 161. KNAEPLER H, HAAS H, PUSCHEL H U. Biomechanical properties of heat and irradiation treated spongiosa. *Unfallchirurg*. 1991; 17 (4): 194-199.
 162. KOHLER P, EHRNBERG A, KREICBERG A. Osteogenic enhancement of diaphyseal reconstruction. Comparison of bone grafts in the rabbit. *Acta Orthop Scand*. 1990; 61 (1): 42-45.
 163. KNAEPLER H, VON GARREL T, SEIPP H M, ASCHERL R. Experimental studies of thermal disinfection and sterilization of allogenic bone transplants and their effects on biological viability. *Unfallchirurg*. 1992; 95 (10): 477-484.
 164. MANABE J. Experimental studies on pasteurized autogenous bone graft. *J Jpn Orthop Assoc*. 1993; 67: 255-266.
 165. CATANESE J 3rd, FEATHERSTONE J D, KEAVENY T M. Characterization of the mechanical and ultrastructural properties of heat-treated cortical bone for use as a bone substitute. *J Biomed Mater Res*. 1999; Jun; 15: 327-336.
 166. WAGNER M, PESCHL H J. Autoclaved bone grafts in prosthesis replacement of the hip. *Orthopade*. 1989; 18 (5): 463-467.
 167. PRUSS A, BAUMANN B, SEIBOLD M, KAO M, TINTENLOT K, VON VERSEN R, RADTKE H, DORNER T, PAULI G, GOBEL U B. Validation of the sterilization procedure of allogeneic avital bone transplants using peracetic acid-ethanol. *Biologicals*. 2001; 29 (2): 59-66.
 168. DUNSMUIR R A, GALLACHER G. Microwave sterilization of femoral head allograft. *J Clin Microbiol*. 2003; 41: 4755-4757.
 169. BARRIGA A, DÍAZ-DE-RADA P, BARROSO J L, ALFONSO M, LAMATA M, HERNÁEZ S, BEGUIRISTAIN J L, SAN-JULIAN M, VILLAS C. Frozen cancellous bone allografts: positive cultures of implanted grafts in posterior fusions of the spine. *Eur Spine J*. Epub ahead of print. 2003.
 170. STAHLMAN G C, HANLEY E N, PHILLIPS E. *Augmenters and alternatives to autogenous bone graft*. Philadelphia: W B Saunders Company, 1997; 4.^a ed, pp 1601-1607.
 171. POITOUT D, NOVAKOVITCH G. Use of allografts in oncology and traumatology. *Int Orthop*. 1987; 11 (3): 169-178.

172. FRIEDLANDER G E, STRONG D M, SELL K W. Studies on the antigenicity of bone I. Freeze-dried and deep-frozen allografts in rabbits. *J Bone Joint Surg Am.* 1976; 58-A: 854-858.
173. FRIEDLANDER G E, MANKIN H J. Bone banking: Current methods and suggested guidelines. *AAOS Instr Course Lect.* 1979; 30: 36-55. 1979.
174. FRIEDLANDER G E, MANKIN H J. Guidelines for the banking of musculoskeletal tissues. *AATB Newsletter.* 1979; 3: 2-4.
175. SIMONDS R. J. HIV transmission by organ and tissue transplantation. *AIDS.* 1993; 7 (Supl 2): S35-S38.
176. TOMFORD W W, PLOETZ J P, MANKIN H J. Bone allografts of femoral heads: Procurement and storage. *J Bone Joint Surg Am.* 1986; 68-A: 534-537.
177. TOMFORD W W, FREDERICKS G R, MANKIN H J. Studies on cryopreservation of articular cartilage chondrocytes. *J Bone Joint Surg Am.* 1984; 66-A: 253-259.
178. MEJDAHL S, HANSEN C A, SKJODT H, REIMANN I. Human bone bank allografts stimulate bone resorption and inhibit proliferation in cultures of human osteoblast-like cells. *Acta Orthop Scand.* 1998; 69 (1): 63-68.
179. PELKER R R, FRIEDLANDER G E. Biomechanical aspects of bone autografts and allografts. *Orthop Clin.* 1987; 18: 54-57.
180. SIMONIAN P T, CONRAD E U, CHAPMAN J R, HARRINGTON R M, CHANSKY H A. Effect of sterilization and storage treatments on screw pullout strength in human allograft bone. *Clin Orthop.* 1994; 302: 290-296.
181. American Academy of Orthopaedic Surgeons. *Task Force on AIDS and Orthopaedic Surgery. Recommendations for the prevention of human immunodeficiency virus (HIV) transmission in the practice of orthopaedic surgery.* Park Ridge, Illinois: American Academy of Orthopaedic Surgeons, 1989.
182. CONRAD E U, GRETCH D R, OBERMEYER K R. Transmission of the hepatitis-C virus by tissue transplantation. *J Bone Joint Surg Am.* 1993; 77-A: 214-224.
183. BUSCH M P, EBLE B E, KHAYAM-BASHI H. Evaluation of screened blood donations for human immunodeficiency virus type 1 infection by culture and DNA amplification of pooled cells. *N Engl J Med.* 1991; 325: 1-5.
184. Centers for Disease Control. Licensure of screening tests for antibody to human T lymphotropic virus type 1. *MMWR.* 1988; 37: 736-740-745-747.
185. HART H, MCOMISH F, HART W G. A comparison of polymerase chain reaction and an infectivity assay for human immunodeficiency virus type 1 titration during virus inactivation of blood components. *Transfusion.* 33: 838-841.
186. BUCK B E, MALININ T I, BROWN M D. Bone transplantation and human immunodeficiency virus: An estimate of risk of acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Clin Orthop.* 1989; 240: 129.
187. Centers for Disease Control. Transmission of HIV through bone transplantation: Case report and public health recommendations. *MMWR.* 1988; 39: 57-58.
188. DEJKERS R L, BLOEM R M, PETIT P L, BRAND R, VEHMEYER S B, VEEN M R. Contamination of bone allografts: analysis of incidence and predisposing factors. *J Bone Joint Surg Br.* 1997; 79-B: 161-166.
189. VEHMEYER S, WOLKENFELT J, DEJKERS R, PETIT P, BRAND R, BLOEM R. Bacterial contamination in postmortem bone donors. *Acta Orthop Scand.* 2002; 73: 678-683.
190. BARRIGA A, DÍAZ-DE-RADA P, BARROSO J L, ALFONSO M, LAMATA M, HERNAEZ S, BEGUIRISTAIN J L, SAN-JULIAN M, VILLAS C. Frozen cancellous bone allografts: positive cultures of implanted grafts in posterior fusions of the spine. *Eur Spine J.* 2004; 152, 152-156.
191. SUGIHARA S, VAN GINKEL A D, JIYA T U, VAN ROYEN B J, VAN DIEST P J, WUISMAN P I. Histopathology of retrieved allografts of the femoral head. *J Bone Joint Surg Br.* 1999; 81 (2): 336-341.
192. CAMPBELL D G, OAKESHOTT R D. Bone allograft banking in South Australia. *Aust NZ J Surg.* 1995; 65: 865-869.
193. CAMPBELL M L, GREGORY A M, MAUERHAN D R. Collection of surgical specimens in total joint arthroplasty: Is routine pathology cost effective? *J Arthroplasty.* 1997; 12: 60-63.
194. SIDDIQUI S A, LIPTON J F, VIGORITA V J, EVANGELISTA J, BRYK E. Bone biopsy as a screening technique for bone bank allograft donation. *Am J Orthop.* 2004; 33: 123-126.
195. BURWELL R G. The fate of bone grafts. In: A G Apley (ed), *Recent advances in Orthopaedics.* London: Churchill, Livingstone, 1969; pp 115-207.
196. RAY R D. Vascularization of bone grafts and implants. *Clin Orthop.* 1972; 87: 43-48.
197. YAZDI M, BERNICK S, PAULE W J. Postmortem degradation of demineralized bone matrix osteoinductive potential: Effect of time and storage temperature. *Clin Orthop.* 1991; 262: 281-287.
198. ASPENBERG P, JOHNSON E, THORNGREN K G. Dose-dependent reduction of bone inductive properties by ethylene oxide. *J Bone Joint Surg Br.* 1990; 72-B, 1036-1037.
199. ENNEKING W F, BURCHARDT H, PUHL J J. Physical and biological repair in dog cortical-bone transplants. *J Bone Joint Surg Am.* 1975; 57-A: 237-252.
200. ENNEKING W F, MINDELL E R. Observations on massive retrieved human allografts. *J Bone Joint Surg Am.* 1991 Sep; 73 (8): 1123-1142.
201. BERREY B H, LORD C F, GEBHARDT M C, MANKIN H J. Fractures of allografts. Frequency, treatment and end-results. *J Bone Joint Surg Am.* 1990; 72-A, 825-833.
202. THOMPSON R C, PICKVANCE E A, GARRY D. Fractures in large-segment allografts. *J Bone Joint Surg Am.* 1993; 75-A: 1663-1673.
203. MUSCOLO D L, PETRACHI L J, AYERZA M A. Massive femoral allografts followed for 22 to 36 years. *J Bone Joint Surg Br.* 1992; 74-B, 887-892.

204. BURCHARDT H, JONES H, GLOWCZEWSKIE F. Freeze-dried allogenic segmental cortical-bone in dogs. *J Bone Joint Surg Am.* 1978; 60-A: 1082-1090.
205. HEIPLE K G, CHASE S W, HERNDON C H. A comparative study of the healing process following different types of bone transplantation. *J Bone Joint Surg Am.* 1963; 45-A: 1593-1616.
206. BONFIGLIO M, JETER W S. Immunological responses to bone. *Clin Orthop.* 1972; 87: 19-27.
207. CHALMERS J. Bone transplantation. *J Clin Pathol.* 1967; 20 (Suppl): 540-550.
208. ENNEKING W F. Histological investigation of bone transplants in immunologically prepared animals. *J Bone Joint Surg Am.* 1957; 39-A: 597-615.
209. FRIEDLANDER G E. Bone allografts: The biological consequences of immunological events. *J Bone Joint Surg Am.* 1991; 73-A: 1119-1122.
210. LEE E H, LANGER F, HALLORAN P, GROSS A E, ZIV I. The effect of major and minor histocompatibility differences on bone transplant healing in inbred mice. *Trans Orthop Res Soc.* 1979; 4: 60.
211. MUSCOLO D L, KAWAI S, RAY R D. Cellular and human response analysis of bone allografted rats. *J Bone Joint Surg Am.* 1976; 58-A: 826-832.
212. STEVENSON S. The immune response to osteochondral allografts in dogs. *J Bone Joint Surg Am.* 1987; 69-A: 573-582.
213. IMAMALIEV A S. The preparation, preservation and transplantation of articular bone. In: A G Apley (ed), *Recent Advances in Orthopaedics.* Baltimore: Williams & Wilkins, 1969; pp 209-263.
214. MANKIN H J, DOPPELT S, SULLIVAN T R, TOMFORD W. Osteoarticular and intercalary allograft transplantation in the management of malignant tumors of bone. *Cancer.* 1982; 50: 613-630.
215. MANKIN H J, FOGELSON F S, THRASER A Z, JAFFER F. Massive resection and allograft transplantation in the treatment of malignant bone tumors. *N Engl J Med.* 1976; 294: 1247-1255.
216. MUSCOLO D L, CALETTI E, SCHAJOWICZ F, SANTINI-ARAÚJO E, MAKINO A. Tissue-typing in human massive allograft of frozen bone. *J Bone Joint Surg Am.* 1987; 69-A: 583-595.
217. OTTOLENGHI C E. Massive osteo and osteoarticular bone grafts. Technique and results of 62 cases. *Clin Orthop.* 1972; 87: 156-164.
218. PARRISH F F. Treatment of bone tumors by total excision and replacement with massive autologous and homologous grafts. *J Bone Joint Surg Am.* 1966; 48-A, 968-990.
219. STEVENSON S LI X Q, MARTIN B. The fate of cancellous and cortical bone after transplantation of fresh and frozen tissue-antigen-matched and mismatched osteochondral allografts in dogs. *J Bone Joint Surg Am.* 73-A: 1143-1156.
220. FRIEDLANDER G E. Biological and immunological aspects of allogenic bone transplantation. In: S Lindholm (ed), *New Trends in Bone Grafting.* Tampere: University of Tampere, 1992; pp 169-175.
221. STRONG D M, FRIEDLAENDER G E, TOMFORD W W, SPRINGFIELD D S, SHIVES T C, BURCHARDT H, ENNEKING W F, MANKIN H J. Immunologic responses in human recipients of osseous and osteochondral allografts. *Clin Orthop.* 1996; 326: 107-114.
222. NORDSTROM D C, SANTAVIRTA S, AHO A, HEIKKILA J, TEPPA A M, KONTTINEN Y T. Immune responses to osteoarticular allografts of the knee-cytokine studies. *Arch Orthop Trauma Surg.* 1999; 119 (3-4): 195-198.
223. DEJKERS R L, BOUMA G J, VAN DER MEER-PRINS E M, HUYSMANS P E, TAMINIAU A H, CLAAS F H. Human bone allografts can induce T cells with high affinity for donor antigens. *J Bone Joint Surg Br.* 1999; 81-B: 538-544.
224. AHO A J, ESKOLA J, EKFORST, MANNER I, KOURI T, HOLLMEN T. Immune responses and clinical outcome of massive human osteoarticular allografts. *Clin Orthop.* 1998 Jan; 53 (346): 196-206.
225. LEWANDROWSKI K U, REBMANN V, PASSLER M, SCHOLLMEIER G, EKKERNKAMP A, GROSSE-WILDE H, TOMFORD W W. Immune response to perforated and partially demineralized bone allografts. *J Orthop Sci.* 2001; 6 (6): 545-555.
226. LEE E H, LANGER F, HALLORAN P, GROSS A E, ZIV I. The immunology of osteochondral and massive bone allografts. *Trans Orthop Res Soc.* 1979; 4: 61.
227. LUNDGREN G, MOLLER E, THORSBY E. In vitro cytotoxicity by human lymphocytes from individuals immunized against histocompatibility antigens. II. Relation to HL-A incompatibility between effector and target cells. *Clin Exp Immunol.* 1970; 6 (5): 671-680.
228. NILSSONNE U. Homologous joint-transplantation in man. *Acta Orthop Scand.* 1969; 40: 429-447.
229. RODRIGO J J, FULLER T C, MANKIN H J. Cytotoxic HLA-antibodies in patients with bone and cartilage allografts. *Trans Orthop Res Soc.* 1976; 1: 131.
230. CONRAD III E U, BRUCKNER J D, HOEKEMA J, CUSICK K, NELSON K. Clinical and immunological evaluation of allograft transplantation for malignant and aggressive bone tumors. In: *Abstract Book of 8th International Symposium on Limb Salvage.* Florence, Italy, 1995; p 16.
231. LORD C F, GEBHARDT M C, TOMFORD W W, MANKIN H J. Infection in bone allografts: Incidence, nature and treatment. *J Bone Joint Surg Am.* 1988; 70-A: 369-376.
232. STEVENSON S, HOROWITZ M. The response to bone allografts. *J Bone Joint Surg Am.* 1992; 74-A (6): 939-950.
233. IKEDA K, SHIGETOMI M, IHARA K, TSUBONE T, HASHIMOTO T, KAWANO H, SUGIYAMA T, KAWAI S. Effects of cessation of immunosuppression on skeleton reconstructed by vascularized bone allograft in rats. *J Orthop Res.* 2004; 22: 388-394.