

# Estudio «in vivo», como sustitutivo arterial, del comportamiento de arterias homólogas tratadas por el método de ultracongelación

A. Martínez Araguz \*

M.<sup>a</sup> V. Diago Santamaría \*\*

L. Rodríguez Toves \*\*

J. González Perea \*\*

C. Vaquero Puerta \*\*

## RESUMEN

Los autores realizan un trabajo experimental en la rata con objeto de valorar arterias aortas homólogas tratadas y conservadas por el método de ultracongelación. Para el estudio se utilizaron 80 animales macho distribuidos en cuatro grupos de 20 cada uno. El primero se utilizaba como testigo, habiendo sufrido sólo operación simulada. Al segundo se le implantó un injerto sin tratamiento previo. Al tercero se le implantó un injerto tratado enzimáticamente, y al cuarto, objeto de nuestro estudio, un injerto tratado por el método de ultracongelación. Estas arterias se implantaron a nivel de la aorta abdominal siendo el espacio de tiempo de valoración un mes y tres meses, al cabo de los cuales se hacía la misma desde el punto de vista morfológico macroscópico, angiográfico, permeabilidad, elasticidad, trombogenicidad, microscopia óptica y electrónica. Los valores cuantificables se procesaron estadísticamente mediante un «b» test. Los resultados de cada uno de los parámetros estudiados en conjunto y de forma comparativa con cada grupo nos hicieron concluir admitiendo que el material vascular tratado por el método de ultracongelación ha mostrado esperanzadores resultados con respecto a los otros materiales comparados, apuntándose como una posibilidad de utilización en el futuro a nivel experimental.

## SUMMARY

**Ultracongealed homologue arteries as replacement material. «In vivo study»**

Four groups of twenty rats each, were studied. The first one with only simulated operation. The next three were implanted with abdominal aorta arterial grafts, 20 non treated, 20 enzyme treated and 20 ultracongealed. The time of assessment was 1 and 3 months. The results of the various parameters (including morphology both macro and microscopical, angiography, mechanic and thrombogenic points of view) made the authors conclude that ultracongealed material offers hopeful results as compared with the other ones, pointing out the possibility of future experimental use.

## INTRODUCCION

Si partimos del hecho que el mejor sustitutivo de un material dañado es otro que posea idénticas característi-

\* Teniente Médico.

Regimiento de Calatrava. Valladolid.

\*\* Servicio del Laboratorio de Cirugía Experimental.

Instituto de Investigaciones Médicas.  
Facultad de Medicina de Valladolid.

cas y propiedades, en el campo de la Angiología cuando tengamos que reemplazar un vaso, el sustitutivo ideal es otro vaso de la misma naturaleza. Esto es posible a nivel flebológico, puesto que disponemos generalmente

de un sistema venoso superficial que puede ser extirpado y utilizado para reparar otros sectores venosos o arteriales sin detrimento para el enfermo (1, 2). En lo que respecta al campo arterial, esta opción es más problemáti-

*Este trabajo ha sido galardonado con el premio «Capitán Médico Ramón y Cajal» en la IV Reunión de Investigación del Hospital Militar Central Gómez Ulla.*

ca, puesto que sólo en contadas ocasiones se pueden realizar sustituciones arteriales autólogas (3), ya que son escasas las arterias de las que podríamos prescindir y ser utilizadas en la reparación de otros sectores. Para obviar este gran problema, históricamente se han utilizado tanto desde el punto de vista experimental como clínico las más diversas y originales opciones (4, 5), aunque en muchas ocasiones con funestos resultados. Los vasos de animales, ya sean arteriales o venosos, se han utilizado para este fin como injerto heterólogo (6, 7), pero su utilización ha tropezado con los problemas derivados del uso de material biológico de otra especie, como han sido la *histocompatibilidad o la adaptación al receptor* (8) con la aparición de todo un florido cortejo de complicaciones. Posteriormente surgieron protocolos técnicos diseñados para salvar estas dificultades, siendo los más importantes los encaminados a transformar la estructura del vaso trasplantado (9) y a su conservación hasta el momento de la implantación (10), ya que como material biológico están sujetos a alteraciones con el paso del tiempo. Los sustitutos arteriales procedentes de la misma especie, es decir, *del hombre*, también han sido utilizados (11, 12), pero sin mucha profusión, si exceptuamos *la vena extraída del cordón umbilical* después del parto, modificada y reforzada para su posterior utilización (13). También se han utilizado venas homólogas extraídas de los pacientes al considerarse patológicas pero aprovechadas para otros fines como los de servir de *accesos para hemodiálisis* (14). Pero *la arteria como sustitutivo homólogo ha presentado hasta el momento actual serios problemas de obtención al ser la única fuente el cadáver y su donación siempre se ha visto dificultada por las costumbres, tradiciones, creencias religiosas o étnicas*. Quizá por estas razones y también por el desarrollo industrial y tecnológico se han empleado distintos *materiales plásticos* (15, 16), que en forma de tubos o parches han solucionado

con mayor o menor éxito la sustitución de un sector o pared arterial consiguiendo el restablecimiento de la irrigación de los miembros. No obstante, este tipo de material sustitutivo ha pretendido siempre imitar en lo posible al comportamiento de la arteria en cuanto a sus propiedades biológicas y físicas, aunque en la mayoría de los casos sólo logra prestar una función de soporte, para acabar siendo colonizado por las células del receptor (17).

En el momento actual la situación general ha cambiado y muy especialmente debido al auge conseguido por la práctica de la realización de trasplantes y las nuevas legislaciones que protegen las donaciones, hechos que nos hacen pensar que quizá sea el momento de resucitar viejas ideas sobre la utilización de *injertos homólogos arteriales*, por lo que debemos de estar preparados para esta eventualidad; pero estos injertos deben de cubrir una serie de objetivos para ser viable su utilización (18). En primer lugar, *conservar las propiedades del vaso* sustituido en cuanto a las características de resistencia o elasticidad; bajo poder antigénico, fácil aceptación por el receptor, sencilla preparación, resistente a la infección, buena conservación y, por último, bajo costo.

Por todos estos motivos, nos unimos a las últimas líneas de investigación y hemos venido ensayando distintas posibilidades. La investigada en este estudio cumple gran parte de las premisas o requisitos de los que tendría que poseer el que podríamos considerar injerto ideal, acercándonos en lo que respecta al modelo a lo que acontece a nivel de los trasplantes de órganos que no actúan de tutores para una posterior colonización del receptor, si no que el tejido vascular trasplantado cumple sus funciones desde el punto de vista orgánico de inmediato y sólo a muy largo plazo, será potencialmente sustituido por las células del receptor cuando ya se ha consolidado el implante y disminuido el peligro de las complicaciones.

## MATERIAL Y METODO

Para realizar el presente estudio, se ha utilizado como animal de experimentación *la rata*, raza Wistar, empleando en el mismo 80 animales macho distribuidos en cuatro grupos, *tres TESTIGOS* y uno *EXPERIMENTAL*, de 20 ratas cada uno. Al primero de los grupos testigo (A) sólo se le practicó *operación simulada con la disección en el espacio retroperitoneal*

*del eje aorto-cava*. Al segundo grupo testigo (B) se le *implantó aorta de rata a nivel abdominal de la misma cepa y raza sin tratamiento alguno*. Al tercer grupo testigo (C) se le *implantó injerto de aorta de rata (homóloga) procesada* según la sistemática de Loisanice y cols. (19). Al grupo experimental se le *sustituyó un segmento de aorta abdominal por otro de rata procesado y conservado según protocolo de ultracongelación reseñado más adelante*.

**Técnica quirúrgica:** Los animales se anestesiaron con Pentobarbital sódico vía intraperitoneal a dosis de 50 mg. por kilogramo de peso corporal. Se colocó el animal en una tabla operatoria y previa sujeción de sus patas, se rasuró la pared abdominal anterior. Se practicó una incisión media suprapúbica y, previa apertura de los planos de la pared, se rechazó a la izquierda el paquete intestinal protegido por una gasita impregnada de suero fisiológico caliente. Se disecó la aorta abdominal procurando no lesionar los vasos colaterales. En los grupos B y C testigos y en el experimental se reseccionaron 2 mm. de aorta infrarrenal distal, anastomosando a continuación en término-terminal con puntos sueltos y sutura de Ethilon 10/0 un segmento de unos 5 mm. de aorta extraída anteriormente del sector aórtico infrarrenal de ratas de la misma raza y cepa y tratadas según el protocolo diseñado para cada grupo. Al primer grupo testigo no se le realizó implante alguno. No se utilizó en este protocolo ningún tipo de anticoagulación (Figs. 1 y 2).

El 50 por 100 de los animales de cada grupo (n=10), se valoraron al mes de iniciada la experiencia y el resto a los tres meses.

El protocolo seguido en la transformación del injerto implantado en el tercer grupo testigo (C) ha sido el siguiente (Fig. 3):

— *Tratamiento del injerto con solución acuosa de ficina activada con L cisteína buferada con buffer citrato pH 5,5, durante 2 horas a 37 °C.*

— *Desactivación de la digestión con solución al 1 por 100 de clorito sódico a 37 °C durante 8 horas.*

— *Pase a solución de dialdehído al 1 por 100 buferada a pH 8,8 con bicarbonato sódico durante 1 hora a 37 °C.*

*Conservación a 4 °C en solución de heparina sódica al 0,9 por 100.*

El protocolo realizado en el injerto posteriormente trasplantado en el grupo experimental y que ha sido motivo principal de nuestro estudio, se efectuó de la siguiente manera (Fig. 4):

— *Rápido lavado en solución salina fisiológica.*

**DATOS CUALITATIVOS:** Se valoró en primer lugar los injertos empleados en el estudio en cuanto a su manejo, elasticidad, aspecto externo, su evolución en la experiencia, incorporación al receptor, reacción del mismo ante la sustitución, componente inflamatorio periarterial y cambios degenerativos.

**PERMEABILIDAD:** En este apartado se siguieron los criterios de valoración de O'Brien (20), tanto en la posimplantación inmediata como al finalizar la experiencia, previo sacrificio del animal. Reseñamos el hecho que la trombosis del injerto u oclusión de la aorta terminal no conlleva necesariamente una isquemia incapacitante de los miembros inferiores del animal.

**ELASTICIDAD DEL INJERTO:** Se valoró mediante un elastómetro los parámetros de elongación y recuperación longitudinal de la bioprótesis, y con estos datos se determinó el parámetro elasticidad.

**TROMBOGENICIDAD:** Parámetro estudiado en el injerto antes de su implantación y al finalizar la experiencia una vez extraído el mismo. Para su valoración se ha seguido el protocolo

de Yates y cols. (21), consistente en la medición, previa preparación de la superficie a estudiar, del tiempo que tardaría en coagularse una gota de sangre sobre la misma extraída anteriormente del mismo animal, en comparación con el de un segmento de la aorta normal.

**MICROSCOPIA OPTICA:** Fragmentos de aorta o del injerto fueron fijados en formol al 10 por 100 durante 24 horas, posteriormente deshidratados en alcohol, benzoato de metilo y benzol; incluidos en bloques de paraplast y cortados a 6 micras, posteriormente hidratados y teñidos mediante la técnica de hematoxilina-eosina. Se visualizaron a 100, 400 y 1.000 aumentos.

**MICROSCOPIA ELECTRONICA:** Se fijaron los materiales a estudiar en tetraóxido de osmio disuelto al 2 por 100 en un tampón de cacodilato sódico. Posteriormente se deshidrataron las piezas en soluciones crecientes de acetona, para pasar posteriormente a óxido de propileno. A continuación se incluyeron las piezas en soluciones de Araldita, cortando más tarde el tejido con ultramicrotomo LKB

— Colocación de los injertos en contenedores de plástico e inmersión en nitrógeno líquido ( $-196^{\circ}\text{C}$ ).

Almacenamiento de los contenedores a  $-30^{\circ}\text{C}$ .

La valoración de los resultados se efectuó con la siguiente metodología:

**ANGIOGRAFIA:** Se procedió a realizar un estudio angiográfico de la aorta terminal de la rata y del injerto en los grupos donde se implantó por inyección retrógrada femoral, previa cateterización de esta arteria con un fino catéter de polivinilo de contraste radiográfico diluido al 50 por 100, realizando una única placa en el momento de la inyección.

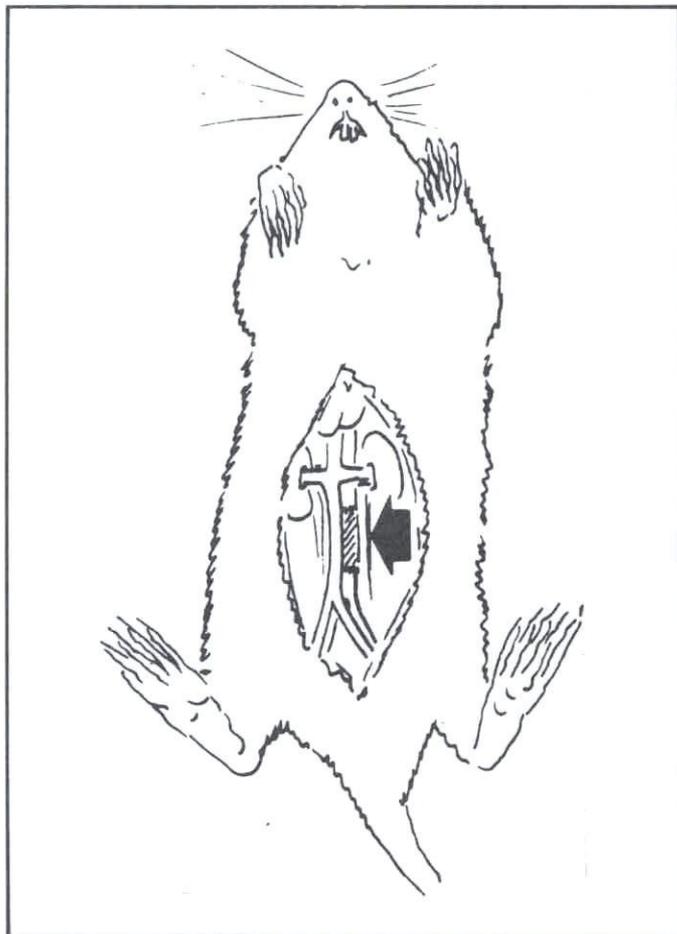


Figura 1. Representación esquemática de la técnica realizada en los grupos B, C y D de nuestro estudio, donde se puede observar la implantación de un injerto a nivel aórtico infrarrenal.



Figura 2. Imagen fotográfica de la interposición de un injerto aórtico abdominal a nivel infrarrenal. A: aorta. I: injerto.

8802 A, obteniendo cortes a 600-800 Å y posterior contrastado. Los cortes han sido observados en un microscopio electrónico Zeiss EM-9A.

Los valores de todos los datos cuantitativos obtenidos han sido procesados estadísticamente por medio de un «t» con una significatividad mínima de  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

Los resultados de los distintos apartados han sido los siguientes:

**ANGIOGRAFIA:** El estudio angiográfico no ha evidenciado sustanciales cambios en los distintos grupos estudiados, si exceptuamos el C, si el vaso permanecía permeable. Sí se ha detectado y de forma constante una discretísima estenosis sin repercusión funcional, a nivel de la anastomosis de la aorta con el injerto, tanto a nivel proximal como distal.

El calibre del injerto permaneció de calibre constante en todos los animales, salvo en el C, en el que se detectaron tres formaciones aneurismáticas de tipo sacular y que correspondieron a injertos trasplantados tres meses antes (Figs. 5 y 6).

**HALLAZGOS CUALITATIVOS:** La bioprótesis obtenida tras el protocolo de transformación y conservación enzimática o por ultracongelación diferían sustancialmente en relación a su aspecto externo (Fig. 7). La del grupo C era un injerto más blanquecino, friable y transparente que el del grupo D, que se parecía más a la aorta fresca. Además, la bioprótesis del grupo C resultaba mucho más maleable y no recuperaba su estructura y disposición normal después de su manejo, permaneciendo plegada y arrugada.

Por otra parte, en todos los animales ha resultado muy dificultoso la disección del espacio retroperitoneal, si bien este hecho estaba acentuado en el grupo C y en el D. No ha existido en ninguno de los casos infección a nivel del injerto y sólo en los grupos B



Figura 3. Fotografía que muestra tubos de ensayo. Los de la izquierda representan cada uno los distintos pasos en el procesamiento del injerto implantado en el grupo C. Los de la derecha son de meros contenedores de las bioprótesis.

y C se ha constatado un marcado componente inflamatorio al mes, no evidenciándose a los tres meses de iniciada la experiencia. Si el injerto estaba obstruido, las arterias ilíacas se presentaron permeables, no existiendo problemas isquémicos de los miembros inferiores, aunque desconocemos si claudicaban al no haber sido sometidos al esfuerzo en el claudicómetro especialmente concebido para este tipo de animales.

El material de sutura siempre ha po-

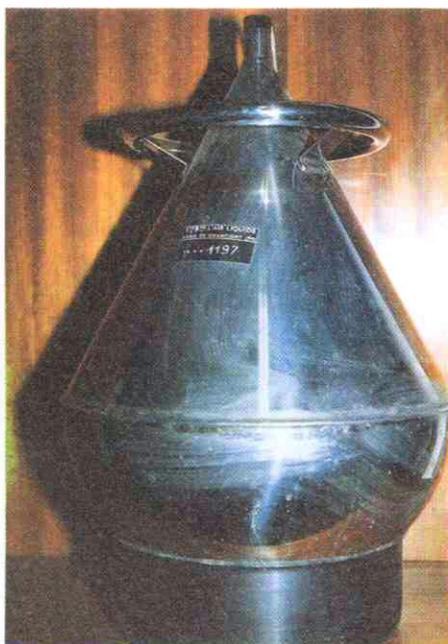


Figura 4. Fotografía de un contenedor utilizado para el almacenamiento de nitrógeno líquido.

sido ser localizado y evidenciado, destacando su coloración oscura, inmersa en la trama de tejido conjuntivo.

**PERMEABILIDAD:** La permeabilidad presentada en los distintos grupos al mes y a los tres meses está representada en porcentajes en la tabla I. En el grupo A todos los animales, después de la disección retroperitoneal de los vasos, permanecían permeables al mes y a los tres meses. En el grupo B, uno se obstruyó al mes y dos aparecieron trombosados a los tres meses, lo que equivalía a un 90 y 80 por 100 de permeabilidad, respectivamente. En el grupo C la tasa de permeabilidad bajó al 70 y 60 por 100, habiéndose obstruido en cada período tres y cuatro injertos, uno de ellos aneurismático. En el grupo D experimental, un injerto se obstruyó en cada período, marcando un 90 por 100 de permeabilidad (Tabla I).

**ELASTICIDAD:** En la tabla II se recogen los valores concernientes a la tasa de Elongación (E), Recuperación (R) y Elasticidad (EL). Con respecto a este último, la máxima elasticidad estaría representada por el valor 1 (al ser este parámetro el cociente entre recuperación y elongación) y la mínima, con tasa de recuperación nula, estaría representada por el valor 0. La significatividad estadística, cuando estuvo presente, se mostró con una  $p < 0,05$  (Tabla II).

**TROMBOGENICIDAD:** Los datos concernientes a este parámetro están recogidos en la tabla III, en con-

**Estudio «in vivo», como sustitutivo arterial, del comportamiento de arterias homólogas tratadas por el método de ultracongelación**

de se señalan en filas los grupos estudiados y en columnas el estudio de este parámetro en el injerto antes de su implantación y una vez extirpado éste al mes o a los tres meses en los distintos subgrupos. El valor ideal que daría el propio vaso no patológico sería de 1; cuanto más se aparten los valores de esta cifra descendiendo, más trombogénico se presenta el injerto. La significatividad estadística en los grupos que los presentaron fue de una  $p < 0,01$  (Tabla III).

**MICROSCOPIA OPTICA:** En el estudio bajo el microscopio fotónico se ha evidenciado en los estudios del injerto sometidos a digestión enzimática, una disminución del espesor de la

pared, con las láminas elásticas conservadas, aunque no el endotelio ni la capa adventicial. Una vez que éste ha sido implantado, ha acaecido una aparición en la media de elementos de aspecto fibrilar, pero no se ha evidenciado una excesiva reacción inflamatoria ni tampoco de tejido granular propios de las reacciones a cuerpo extraño. Los monocitos y los macrófagos han permanecido ausentes. Posteriormente, al cabo de los tres meses, ha existido una colonización fibrótica a partir del tejido conjuntivo cicatricial surgido alrededor del injerto, junto con un crecimiento lacunar del endotelio, sin hiperplasia del mismo.

En lo que respecta al estudio del injerto sometido a ultracongelación, su aspecto histológico ha recordado al de la aorta normal, si bien ha mostrado una menor captación de los colorantes y cierto resquebrajamiento de la íntima con la aparición de pequeños espacios vacuolares a nivel adventicial. Ha permanecido la estructura de este injerto más o menos parecida a la de la aorta normal en el primer mes con cierta colonización de elementos fibrilares en la media, hecho que se acentuó a los tres meses. Al cabo de este

tiempo, ya la adventicia ha aparecido inmersa en un magma fibrótico de origen reaccional (Fig. 9).

**MICROSCOPIA ELECTRONICA:** La valoración ultramicroscópica de los injertos se valoró a 6.400 aumentos, observando en mejores condiciones que por la microscopia óptica la integridad endotelial en el grupo D, la disposición de las fibras musculares y la estructura adventicial. A nivel de los injertos digeridos enzimáticamente, antes de su implantación ya se detectó una pérdida endotelial, así como una desestructurización con la aparición de espacios vacuolares debido fundamentalmente a la retracción de los tejidos. Después de la implantación, la pared es sustituida por un tubo fibrótico procedente con toda probabilidad del receptor. En cuanto a más detalles del injerto ultracongelado, también podríamos apuntar que, algunos casos aparecieron lesiones degenerativas de escasa cuantía antes de la implantación, pero que posteriormente no se detectaron en el examen ulterior al concluir la experiencia ni al mes ni a los tres meses. Precisamente en este posterior estudio tenemos que reseñar que el injerto a la vez que con-



Figura 5. Imagen angiográfica a nivel del injerto implantado. Las flechas señalan las suturas proximal y distal del mismo.

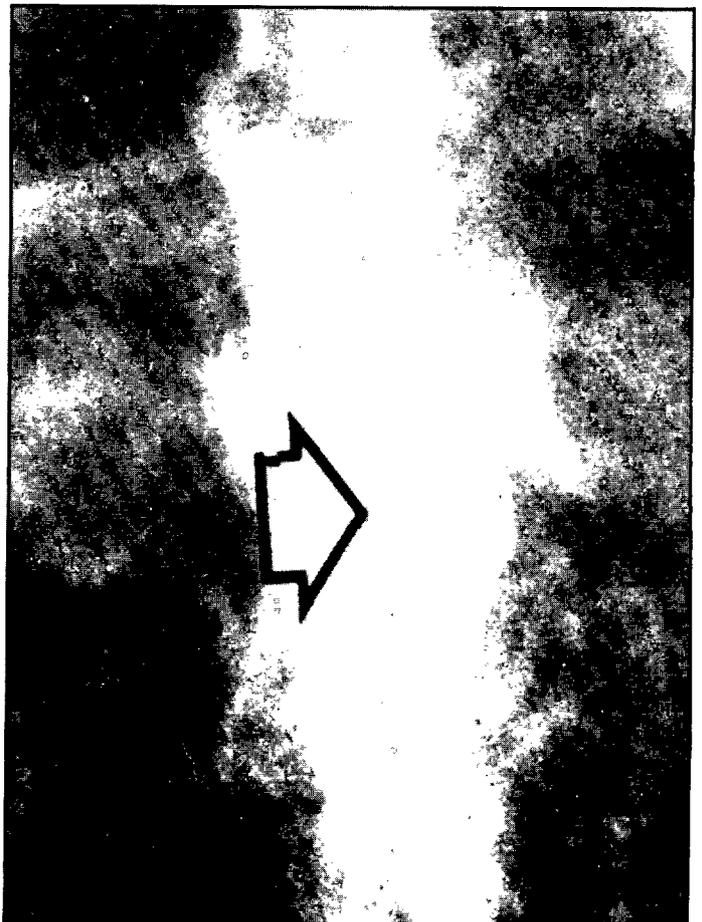


Figura 6. Imagen angiográfica de un aneurisma saciforme desarrollado en el grupo C.

servaba sus capas, sufría un discreto engrosamiento de la íntima y la lámina que la sustenta. La muscular se ve en parte invadida por tejido conjuntivo y la adventicia queda integrada en el tejido fibroso del espacio retroperitoneal del receptor.

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

La utilización de vasos de origen homólogo como sustitutivos tanto a nivel arterial como venoso no es novedoso. Ya Carrel en 1908 (22) los empleó, aunque limitado a la parcela experimental. Posteriormente, tres años más tarde, se emplearían a nivel asistencial (23), aunque no con demasiado éxito, hecho que motivó que este tipo de injertos fueran olvidados hasta que Gross y cols. (24) los volvieron a utilizar años más tarde. Posiblemente parte del problema del rechazo de este tipo de materiales sustitutivos se deba

a las complicaciones o fracasos acaecidos después de las implantaciones. McCune y cols. (25) apuntan que estas complicaciones se deben en gran medida al sistema nutricional del vaso, dado que en el injerto trasplantado sólo existiría una nutrición íntima, ya que no sería factible la de la muscular y de la adventicia, debilitándose el mismo, hecho que no ocurre por su especial configuración en las venas conservadas según señalan por otra parte Fiera y cols. (26). Posiblemente fueran toda esta serie de consideraciones las que impulsaron a Loisan y cols. (27) a investigar una nueva bioprótesis con criterios distintos de viabilidad, ya que buscaron la obtención de un neoconducto a expensas de suprimir la matriz conjuntiva mediante la digestión enzimática del injerto implantado obteniendo tubos de colágeno con una buena endotelización posterior. *Lo extraño hasta el momento es que los inconvenientes anteriormente presentados para este tipo de injertos no lo han sido para otros de origen heterólogo, es decir, más distantes desde el punto de vista filogenético y por lo tanto estructural, al pertenecer a distintas especies.* Este es el caso de los heteroinjertos procedentes de la carótida de buey o vaca, que no sólo han sido utilizados como accesos en hemodiálisis, sino también sirviendo de sustitutivos en sectores arteriales como el fémoro-poplíteo (28, 29). Otro tanto se podría decir de la vena umbilical,

que por especiales características arquitecturales podría participar de las características de estos grupos (30). Los métodos de preparación de los injertos, por otra parte, han sido muy variados, abarcando desde la curación del mismo con glutaraldehído (31), pasando por las digestiones enzimáticas (32), liofilización (33), congelación (34), la simple conservación (35) o, por último, la ultracongelación (36). A veces estos métodos se han utilizado combinados, añadiendo en algunos casos corticoides, antibióticos o heparina (37).

Sí que tendríamos que admitir que la falta de utilización de este tipo de injertos en parte se debe a la posibilidad de disposición de sustitutivos de tipo plástico, que aunque no exentos de complicaciones tras su empleo, sí que han presentado un fácil acceso a aquellos que han deseado su implantación (38, 39, 40). La enorme pujanza y poderío industrial, junto con unos aceptables resultados, han ido manteniendo su uso y a veces impidiendo la investigación de otras vías alternativas de sustitución vascular (41). Las prótesis empleadas han sido muy diversas y con diferentes objetivos relativos a su incorporación, pretendiendo por una parte que ésta sea rápida, potenciando una colonización del tejido protésico (43), a diferencia de los que mantienen la idea de proporcionar un sustento conductal en detrimento de una rápida integración.

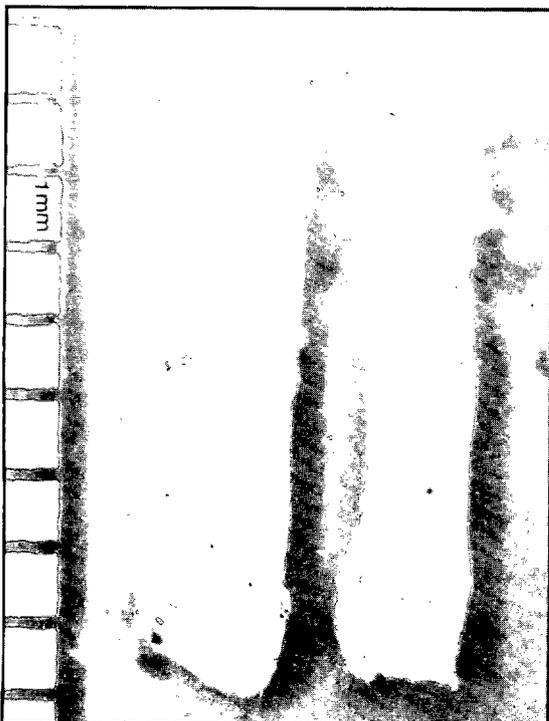


Figura 7. Segmentos de bioprótesis implantados en los grupos C y D. El de la derecha corresponde al digerido enzimáticamente, el de la izquierda el tratado por ultracongelación.

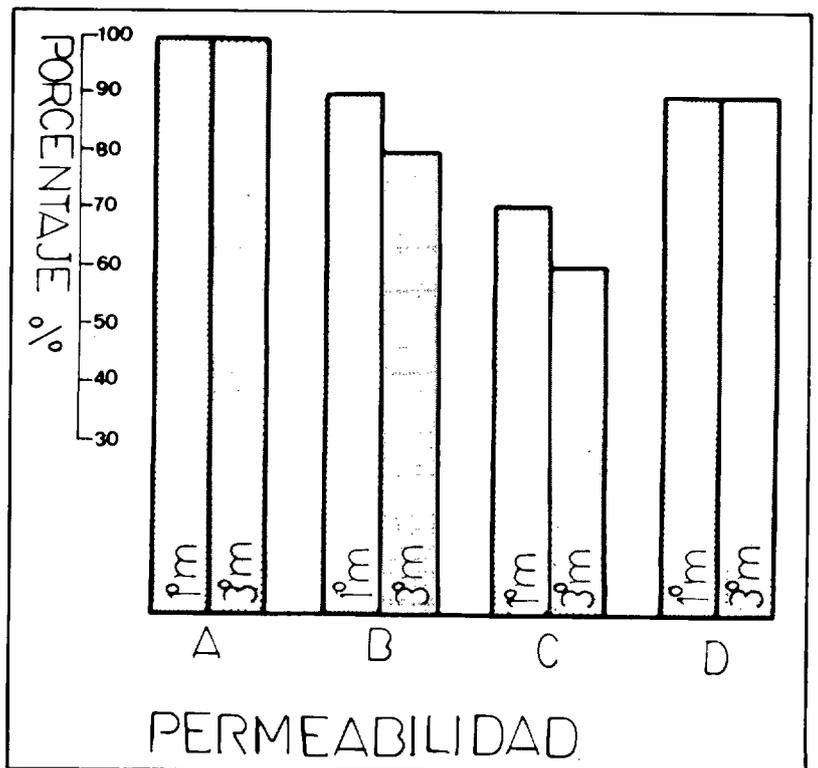


Tabla 1. Datos concernientes al parámetro PERMEABILIDAD.

**Estudio «in vivo», como sustitutivo arterial, del comportamiento de arterias homólogas tratadas por el método de ultracongelación**

En nuestro estudio, el injerto protocolizado según el método de la digestión enzimática ha cumplido parcialmente los objetivos de los autores que le han diseñado y utilizado, sufriendo simultáneamente después de

su implantación un proceso de degradación lenta junto a otro de reconstrucción a partir del tejido conjuntivo adyacente y del endotelio vascular del receptor (44), pero también los inconvenientes de una esqueletización de la

	A	B	C	D
E	0,15±0,03	0,15±0,06 <sub>n.s.</sub>	0,20±0,07 <sub>*</sub>	0,10±0,03 <sub>*</sub>
R	0,12±0,03	0,13±0,03 <sub>n.s.</sub>	0,05±0,01 <sub>*</sub>	0,05±0,02 <sub>*</sub>
EL.	0,66±0,10	0,67±0,12 <sub>n.s.</sub>	0,23±0,09 <sub>*</sub>	0,50±0,12 <sub>*</sub>

ELASTICIDAD

★P<0,05

Tabla II. Datos concernientes al parámetro ELASTICIDAD.

	PRE	1 MES	3 MES
A		1	1
B	0,69±0,16 <sub>*</sub>	0,73±0,15 <sub>*</sub>	0,79±0,17 <sub>*</sub>
C	0,51±0,12 <sub>*</sub>	0,53±0,13 <sub>*</sub>	0,56±0,17 <sub>*</sub>
D	0,67±0,12 <sub>*</sub>	0,79±0,16 <sub>*</sub>	0,91±0,17 <sub>*</sub>

TROMBOGENICIDAD

★P<0,01

Tabla III. Datos concernientes al parámetro TROMBOGENICIDAD.

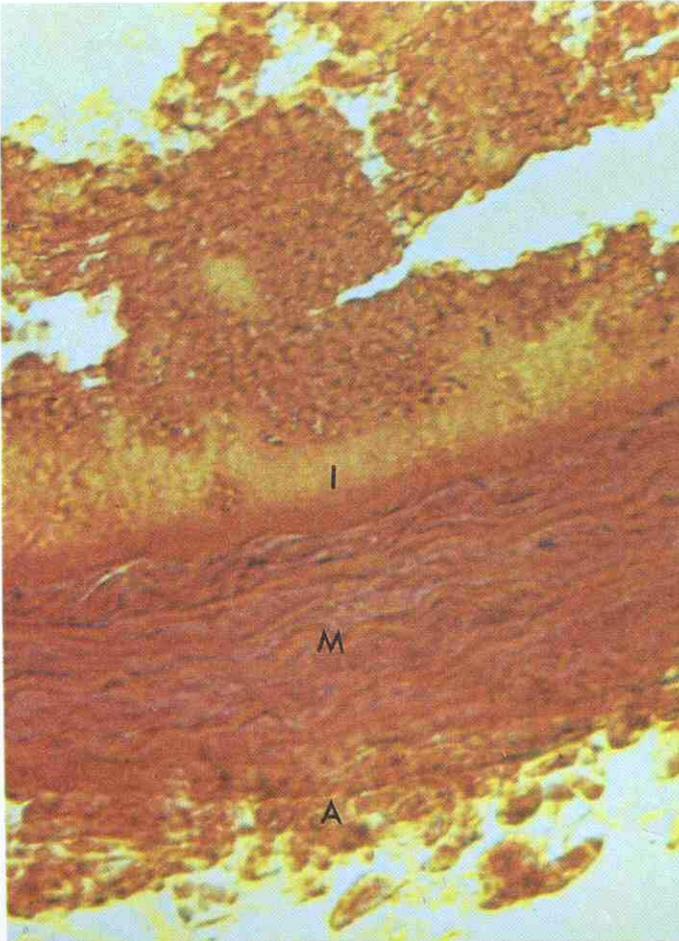


Figura 8. Imagen del injerto implantado en el grupo D experimental procesada para microscopía óptica y teñido mediante el método de Hematoxilina-Eosina. I: íntima. M: muscular. A: adventicia.



Figura 9. Imagen de microscopía electrónica de la pared de un injerto del grupo D ultracongelado. E: endotelio. M: muscular. TF: tejido fribroso.

pared arterial con la aparición de formaciones aneurismáticas con una insuficientemente baja tasa de trombo- genicidad.

La finalidad de emplear y ensayar una bioprótesis tratada con el método de ultracongelación es la de abrir otra vía de tratamiento a los injertos de origen arterial, que pretende preservar en su totalidad una serie de características propias del vaso a la vez que se lograría una interrupción de la lisis celular (46). Se parte del hecho de que el vaso puede ser extraído «vivo» a semejanza de los riñones o del corazón, por citar un ejemplo, consiguiendo con la ultracongelación una instantánea interrupción de los procesos degenerativos por muerte celular de la pared del vaso, logrando más tarde después de la descongelación la implantación de un injerto que conservaría en la totalidad sus cualidades estructurales, pero con una clara inhibición de su poder antigénico (47). Este tipo de preservación por ultracongelación ha sido utilizado más frecuentemente en lo que respecta a los sustitutivos venosos que a los arteriales, que se han realizado en contadas ocasiones. El método es sencillo y práctico, y sólo precisa para su ejecución el disponer de

un contenedor especial con el nitrógeno líquido y el congelador que pueda mantener temperaturas inferiores a los  $-30^{\circ}\text{C}$ . El período de descongelación antes de la implantación no es muy lento y siempre se podrá prever con un tiempo suficiente para poder ser implantado en el receptor (48).

Sobre la utilización de crioprotectores como el dimetil sulfósido, parece ser que estos no son necesarios, como apuntan Weber y cols. (49), siendo indiferente su empleo y no ejerciendo ninguna influencia en el resultado, en contra de la opinión que mantienen Boren y cols. (50), sobre la prevención del mantenimiento parcial del endotelio del injerto, viabilidad celular y reducir la capacidad antigénica. Coincidimos con Baird y cols. (51) que este tipo de injertos conservados por la acción del frío se caracterizan por mantener sus propiedades elásticas; y también con las apreciaciones de Reichle y cols. (54) de la baja tasa de trombo- genicidad, aunque ellos lo estudiaron con distintos criterios a los nuestros. Por otra parte, en relación a este aspecto, los injertos tratados enzimáticamente parecen que pierden sus cualidades en cuanto a la elasticidad, debido fundamentalmente a una digestión de sus proteínas estructurales, colagenasa y elastina (53), creando un conducto frágil y expuesto a las dilataciones patológicas de tipo aneurismático, a las dehiscencias en los lugares de sutura y a la trombosis por sus marcados cambios degenerativos. Pero no obstante, también habría que señalar que el ciclo rápida congelación, rápido deshielo, parece que disminuye la acumulación de hielo extracelular, lo cual puede reducir el daño de las proteínas estructurales localiza-

das inicialmente fuera de la pared celular. Los resultados conseguidos por este tipo de injerto ultracongelado son independientes del tiempo de almacenamiento, según demostró a nivel venoso Attinger (55).

La diferencia entre el sistema de ultracongelación y otros de congelación lenta a  $-40^{\circ}\text{C}$  ó  $-4^{\circ}\text{C}$  difieren sustancialmente, lo mismo con los de refrigeración a  $4^{\circ}\text{C}$ , al efectuarse en estos últimos un enfriamiento lento del tejido, permitiéndose alteraciones citológicas, así como metabólicas con trasiego de electrolitos y acumulación de líquidos en el espacio extracelular.

De esta forma podríamos concluir diciendo que nuestro estudio ha tratado de investigar a nivel experimental las posibilidades de utilización, en el futuro, de materiales sustitutivos vasculares de origen homólogo conservados por el método de ultracongelación, del cual ya se tiene alguna experiencia en el campo venoso, pero insuficiente a nivel arterial. *Que este ensayo ha sido francamente positivo*, si lo comparamos con otras alternativas propuestas y ya utilizadas, que nos han servido como medio de control, y que quizá ya estemos en estos momentos moral y técnicamente capacitados para emplear estos materiales como sustitutivos a nivel arterial, en sectores poco comprometidos desde el punto de vista vital y funcional, para obtener una experiencia válida en su empleo y penetrar en otros campos de utilización. Y, por último, añadir que si quizá esta vieja idea de la preservación por el frío no se desarrolló en su momento, ahora se encuentra con los condicionamientos y la situación estructural válida que pudiera hacer posible su viabilidad.

## BIBLIOGRAFIA

1. HOCKERSTEDT, K.; HANONEN, J., y FRIMAN, C.: «Connective tissue changes in autogenous vein graft used as a mesocaval shunt». *Ann. Chir. Gynecol.* 70, p. 5, 1981.
2. GRAHAM, J. W., y HANEL, K. C.: «Vein grafts to the peroneal artery». *Surgery* 89, p. 264, 1981.
3. STONEY, R. J.: «Ex vivo artery reconstruction». *Arch. Surg.* 113, p. 1.272, 1978.
4. WAGNER, M.: «The cutis patch as a vascular prosthesis». *J. Cardiovas.* 7, p. 517, 1966.
5. PEIRCEY, E. C., y BALTIMORE, M. D.: «Autologous tissue tubes aortic grafts in dogs». *Surgery* 53, p. 648, 1953.
6. ROSENBERG, N.; MARTINEZ, A.; SAWYER, P. N.; WESOLOWSKY, S. A.; POSTLETHWAIT, R. W., y DILLON, M. L.: «Tanned collagen arterial prosthesis of bovine carotid origin in man». *Ann. Surg.* 164, p. 247, 1976.
7. WALTER, P., y SCHMITZ, H.: La prótese vasculaire hétérologue. *Symposium St. Gall*, 1975.
8. PERLOFF, L. J.; POWLANDS, D. T., y BARKER, C. F.: «The venous homografts. An immunological question». *Surgery* 72, p. 961, 1972.
9. GUIDOIN, R.; NOEL, H. P., y BENICHOUX, R.: «La veine ombilicale humaine traitée au glutaraldéhyde comme substitut artériel de petit diamètre». *J. Chir.* 119, p. 443, 1982.
10. GOTTLÖB, R.; STOCKINGER, L., y GESTRING, G. H.: «Conservation of veins with preservation of viable endothelium». *J. Cardiovas. Surg.* 23, p. 109, 1982.
11. STARZL, T. E.; HALGRIMSON, C. G.; KOEP, L. J.; WEIL, R., y TAYLOR, P. D.: «Vascular homografts from cadaveric organ donors». *Surg. Gynecol. Obstet.* 21, p. 737, 1982.
12. SHEIL, A. G. R.; STEPHEN, M. S.; BOULAS, J.; JOHNSON, D. S., y LOEWENTHAL, J.: «Small arterial reconstruction using modified cadaveric saphenous veins». *Surgery* 22, p. 321, 1981.
13. HANSEN, B.; EICKHOFF, J., y LORENTZEN, J. E.: «Umbilical vein grafts for reconstruction surgery below the inguinal ligament». *Acta Chir. Scand.* 502, p. 158, 1980.
14. GARCIA, A.; GARCIA, S. A.; GOROSPE, I.; TELLERIA, J., y YANEZ, A.:

**Estudio «in vivo»,  
como sustitutivo arterial,  
del comportamiento de arterias homólogas  
tratadas por el método de ultracongelación**

Homoinjertos de vena congelada. Experiencia en fistulas arteriovenosas para hemodiálisis. Libro Congreso Nacional Angiología y CV, 1984.

15. CRAWFORD, E. S.; DEBAKEY, M. E., y COOLEY, D. A.: «Clinical use of synthetic arterial substitutes in three hundred seventeen patients». Arch. Surg. 76, p. 261, 1958.
16. CRANLEY, J. J., y HAFNER, C. D.: «Newer prosthetic material compared with autogenous saphenous vein for occlusive arterial disease of the lower extremity». Surgery. 89, p. 2, 1981.
17. MCCOLLUM, C. N.; KESTER, R. C., y RAJAH, S. M.: «Arterial grafts maturation: the duration of thrombotic activity in dacron aortofemoral grafts measured by plaquetet an fibrinogen kinetics». Br. J. Surg. 68, p. 61, 1981.
18. SAUVAGE, L. R.; BERGER, K. E.; MANSFIELD, P. B.; WOOD, S. L.; SMITH, J. C., y OTHIE, J. B.: «Future directions in the development of arterial prostheses for small and medium caliber arteries». SCNA 54, p. 213, 1974.
19. LOISANCE, D.; BESSOU, J. P.; SERVANT, J. M.; MOCZAR, M., y VOURON, J.: «Etude expérimentale d'une prothèse micro-artérielle biodegradable». J. Chir. 116, p. 531, 1979.
20. O'BRIEN, B. M.: Microvascular reconstructive surgery. Churchill Livingstone. Ed. London, 1977.
21. YATES, S. G.; NAKAGAWA, Y.; BERGER, K., y SAUVAGE, L. R.: «Surface thrombogenicity of arterial prostheses». Surg. Gynecol. Obstet. 136, p. 16, 1973.
22. CARREL, A.: «Results of the transplantation of blood vessels, organs and limbs». JAMA 51, p. 1.662, 1908.
23. PIROVANO, M. A.: «Un cas de greffe artérielle». Presse Med. 19, p. 55, 1911.
24. GROSS, R. E.; BILL, J. R., y PIERCE, E. C.: «Methods for preservation and transplantation of arterial grafts». Surg. Gynecol. Obstet. 88, p. 698, 1949.
25. MCCUNE, W. S.; PASCHOLD, K., y OSCHNER, A.: «Nutritional of blood vessel grafts: India ink injection study of their vascularization». Surg. Gynecol. Obstet. 94, p. 34, 1952.
26. FIEZA, P.; DE FALCO, R., y TANINI, J.: «An assesment of allograft for arterial grafting». Circulation. 40, p. 79, 1969.
27. LOISANCE, D.; MOCZAR, M.; BESSOU, J. P.; DAVID, Ph.; LEANDRI, J.; VOURON, J., y GINAT, M.: «Etude a long terme d'une greffe artérielle de petit calibre». Ann. Surg. 37, p. 189, 1983.
28. ROSENBERG, N.: «Experiences with modified bovine carotide arteries in arterial surgery». Surg. 68, p. 1.064, 1970.
29. KESHISIAN, J.: «Clinical experience with the modified bovine arterial heterograft». Ann. Surg. 172, p. 690, 1970.
30. DARDICK, H., y DARDICK, J.: «Successful arterial substitution with modified human umbilical vein». Ann. Surg. 183, p. 252, 1976.
31. RUSSELL, A. D., y HOPWOOD, D.: «The biological uses and importance of glutaraldehyde». Prog. Med. Clin. 17, p. 271, 1976.
32. MOCZAR, M.; GODEAU, G.; ROBERT, A. M.; MOCZAR, E.; LOISANCE, D., y BESSOU, I.: «Biodegradable arterial prosthesis from rat aorta». Path Biol. 28, p. 517, 1980.
33. GOLDMAN, M. H.; STRONG, D. M.; BRICKLEY-PARSONS, D.; FLOERING, D. A.; GAWITH, K., y FRENCH, D.: «Lyophilized veins as vascular substitutes». Transpl. Proc. 2, p. 1.510, 1979.
34. EASCOTT, H. H., y HUNFNAGEL, C. A.: «The preservation of arterial grafts for freezing». Surg. Forum. 7, p. 269, 1959.
35. PRENDERGAST, F. J.; MCGEACHIE, J. K.; FABRE, J. W.; WINEARLS, L. G., y MORRIS, P. J.: «Vein allografts for arterial replacement in rats». Transplantation. 27, p. 49, 1979.
36. L'ITALIEN, G. J.; RANDOLPH, B. S.; MALONEY, D., y ABBOTT, W. M.: «The preservation of the mecanical properties of venous allografts by freezing». J. Surg. Res. 27, p. 239, 1979.
37. KOJIMA, Y.; SANADA, Y., y FONKALSRUD, E. W.: «The effect of immunosupression on the patency and structure of canine vein allografts in the venous system». Surg. Gynecol. Obstet. 154, p. 853, 1982.
38. MOORE, W. S.; MALONE, J. M., y KEOWN, K.: «Prosthetic arterial graft material». Arch. Surg. 115, p. 1.379, 1980.
39. GOEAU-BRISSENIERE, O.; GUIDOIN, R.; PECHERE, J. C., y BACOURT, F.: «Colonisation bacterienne expérimentale de 3 types de prothèses artérielles». Chirurgie. 109, p. 440, 1983.
40. HESS, F.; JERUSALEM, C., y BRAUN, B.: «A fibrous polyurethane microvascular prosthesis. Morphological evaluation of the neo-intima». J. Cardiovas. Surg. 24, p. 509, 1983.
41. MELLIERE, D.; LASRY, G., y LANGE, F.: «Résultats et indications des prothèses en chirurgie artérielle». J. Chir. 116, p. 285, 1979.
42. RAITHER, D., y GROITL, H.: «Small artery reconstruction with a new vascular prosthesis». World J. Surg. 4, p. 223, 1980.
43. MCCANN, R. L.; LARSON, R. M.; MITCHENER, J. S., y HAGEN, P.: «Histological and biochemical studies of vascular autografts». Artery. 6, p. 267, 1980.
44. BANZET, P.; BRICOUT, N.; LORENCEAU, B.; GROSS, Ph., BRUNAIS, B., y ARROUVEL, Cl.: «Etude expérimentale d'une prothèse vasculaire hétérologue sur des vaisseaux de petit calibre». Chirurgie. 108, p. 487, 1982.
45. WATANABE, K.: «Microarterial prostheses of expanded polytetrafluoroethylene». J. Microsurg. 2, p. 11, 1980.
46. GAGE, A. M.; MONTES, M., y GAGE, A. A.: «Freezing the canine thoracic aorta in situ». J. Surg. Res. 27, p. 331, 1979.
47. CALHOWN, A. D.; BAUR, G. M.; PORTER, J. M.; HOUGHTON, D. H., y TEMPLETON, J. W.: «Flech and cryopreserved venous allografts in genetically characteriz dogs». J. Surg. Res. 22, p. 687, 1977.
48. MEADE, J. W.: «Arterial homograft». Arch. Surg. 93, p. 392, 1966.
49. WEBER, T. R.; LINDENAUER, J. M., y DENT, T. L.: «Long term patency of vein grafts preserved in liqued nitrogen in dimehyl sulfoxide». Ann. Surg. 184, p. 709, 1976.
50. BOREN, H. L.; ROON, A. J., y MOORE, W. S.: «Maintenance of viable arterial allograft by cryopreservation». Surgery. 83, p. 382, 1977.
51. BAIRD, R. N.; KIDSON, R. G.; L'ITALIEN, G. J., y ABBOTT, W. M.: «The dynamic compliance of arterial grafts». Amer. J. Physiol. 233, p. 568, 1977.
52. REICHLE, F. A.; STEWART, G. J., y ESSA, J.: «A transmission and scanning electron microscope study of luminar surfaces in dacron and autogenous vein bypasses in man and in dog». Surgery. 74, p. 945, 1973.
53. BAIRD, R. N., y ABBOTT, W. M.: «Elasticity and compliance of canine femoral and jugular vein segments». Amer. J. Physiol. 233, p. 15, 1977.
54. LITVAN, G. G.: «Mechanims of cryoinjury in biologic systems». Cryobiology. 9, p. 182, 1972.
55. ATTINGER, E. O.: «Wall properties of veis». Trans. Biomed. Eng. 16, p. 253, 1969.
56. ARMAND, M. K., y SHLAFER, M.: «Ultrastructure function correlative studies for cardiac cryopreservation. IV, Pre-thaw ultrastructure of myocardium cooled slowly o radidly with o without DMSO». Cryobiology. 12, p. 130, 1975.