



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

179
24

Injerto de Politetrafluoretileno con
Sembrado de Células Endoteliales en
el Sistema Venoso del Perro.

TRABAJO CON
FALLA DE ORIGEN

T E S I S

Que para obtener el título de
Médico Veterinario Zootecnista

P r e s e n t a

Ramírez Caballero Francisco

Asesores: MC. Acuña Prats Rafael
MVZ Cervantes Sánchez Rafael
MVZ Olvera Nevarez Renato
MC Rojas Reyna Guillermo A.
MVZ Rojero Vallejo Javier



México, D.F.

25 de julio de 1990



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

C O N T E N I D O

I.	RESUMEN	1
II.	INTRODUCCION	2
	- Historia	2
	- Injertos en el Sistema Venoso	6
	- Características del Injerto Politetrafluoretileno (P.T.F.E.)	11
	-Técnicas de sembrado de células endoteliales	15
III.	JUSTIFICACION	19
IV.	HIPOTESIS	20
V.	OBJETIVOS	20
VI.	MATERIAL Y METODOS	21
	- Población	21
	- Criterios de inclusión, exclusión y eliminación..	21
	- Características del injerto de Politetrafluoretileno (PTFE)	22
	- Técnicas de sembrado de células endoteliales	23
	- Técnica quirúrgica	24
	- Definición de variables	26
VII.	RESULTADOS	27
VIII.	CONCLUSIONES	29
IX.	CUADROS Y FIGURAS	30
X.	LITERATURA CITADA	35

R E S U M E N

RAMIREZ CABALLERO FRANCISCO. Injerto de politetrafluoretileno con sembrado de células endoteliales en el sistema venoso del perro. (Bajo la dirección de: Rafael Acuña Pratz, Rafael Cervantes Sánchez, Renato Olvera Nevarez, Guillermo A. Reyán, Javier Rojero Vallejo).

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo mejorar la permeabilidad de los injertos sintéticos de politetrafluoretileno (PTFE) creando un endotelio a todo lo largo del injerto mediante la derivación enzimática de células endoteliales a partir de la vena autóloga, porque hoy día los injertos venosos a excepción de la vena autóloga -- presentan trombosis e hiperplasia fibrosa de la íntima que invariablemente conduce a la obstrucción de la prótesis; por lo que al realizar el experimento se encontraron células endoteliales a todo lo largo del injerto a pesar de que estos sufrieron de oclusión posoperatoria, por lo que es factible crear un endotelio en los injertos de PTFE aunque es probable que el bajo flujo haya sido la causa principal de la trombogenicidad a través del injerto en el sistema venoso -- siendo de poco valor o nula la ayuda del antigregante plaquetario.

I INTRODUCCION

HISTORIA

La cirugía vascular moderna se ha desarrollado a un ritmo rápido y espectacular en menos de 3 décadas hasta - alcanzar su estado actual; sin embargo es poco probable - que hubiéramos logrado la edad de oro actual sin las brillantes aportaciones aparecidas después de los años cuarenta. (12).

Mucho antes de la época actual de la cirugía vascular, ya habfan aparecido publicaciones que trataban de - problemas vasculares.

Aunque de forma ocasional hay constancia de la práctica de ligaduras y de las arterias sangrantes desde el siglo I se atribuye a Ambrosia Paré la introducción de su uso para controlar la hemorragia arterial, y por lo tanto el establecimiento de la ligadura como método aceptado de tratamiento. (12).

Hasta 1899 Dorfler quiso adoptar la técnica de penetrar el vaso que consistía en la utilización de agujas redondas y seda fina, su sutura era continua y abarcaba las 3 capas del vaso; su experiencia le hizo deducir que la presencia de hilo aséptico de seda en la luz del vaso no conducía necesariamente a la trombosis por tanto, no - estaba contraindicada la penetración del vaso.

Hacia finales del siglo XIX surgió un aumento gradual del interes en los métodos de sutura y anastomosis - de vasos, sin embargo las contribuciones más notables fueron las de Alexis Carrel, quien en 1902 publica un pequeño artículo titulado Técnica Quirúrgica de las anastomosis vasculares y el trasplanto de órganos. (12).

Una de las principales aportaciones de Carrel es

método de triangulación de los vasos para las anastomosis que consiste en: Hemostasis temporal cuidadosa, separación de la adventicia en la zona de sutura, prevención de la deshidratación de los tejidos, triangulación de los extremos del vaso, también materiales finos de sutura y aproximación de las superficies de la íntima mediante sutura con eversión de todas las capas de los vasos.

Carrel fue el primero en sustituir segmentos arteriales mediante la interposición de injertos venosos autólogos invertidos con una permeabilidad adecuada y describió los cambios biológicos de los injertos venosos en el sistema arterial, dándole el Premio Nobel de Medicina en reconocimiento a su trabajo sobre la sutura vascular y el trasplante de vasos y órganos. Por lo que se le considera el Padre de la cirugía vascular.

En las 2 Guerras Mundiales la ligadura arterial aún era el tratamiento de elección para las lesiones vasculares agudas, hasta que en 1952 se aplicaron los últimos avances de la cirugía vascular como las aportadas por Carrel. (30) (32) (35).

Hoy día, los injertos de vena autóloga se utilizan no sólo para problemas vasculares periféricos, sino también para derivaciones coronarias y cerebrales.

El avance en otras áreas de la medicina como arteriografías, antibióticos, anticoagulantes y otros aspectos de la hematología permitieron que la cirugía vascular entrara a una nueva etapa. (12).

Otro gran paso en el desarrollo de la cirugía vascular lo constituyó la utilización de injertos sintéticos - por Voorhes, Jaretzki y Blakemore quienes realizaron en 1952 la primera sustitución arterial, iniciando de esta

manera una nueva época, alterando de forma radical algunos de los conceptos clásicos de la trombosis intravascular.

La cirugía vascular actualmente en lo que respecta al territorio venoso va a la zaga de los métodos de reconstrucción arterial, aunque siga los principios básicos de las técnicas vasculares.

El primer intento de colocar injertos venosos lo realiza Exner quien transplantó segmentos autólogos de la vena yugular - de un lado al otro en perros sirviéndose de la protesis - de Payr. (11) (12).

La aparición de las prótesis arteriales estimuló la renovación del interés por los injertos del sistema venoso; el resultado fué que un gran número de investigadores se dedicaron a la cirugía venosa. En la fase de laboratorio de las investigaciones se abordó la sustitución de todas las porciones venosas incluidas las venas cava superior e inferior, así como las venas periféricas, se estudio una gran variedad de materiales aplicables a diferentes localizaciones. De la información así obtenida se sacaron dos conclusiones principales:

- a) Los injertos de vena cava superior tienen mejores resultados que los de vena cava inferior, que tienen mayor tendencia a la trombosis, independientemente del material utilizado.
- b) Las venas autólogas son el mejor material de injerto en el sistema venoso, siendo estas conclusiones validas en venas de tamaño medio porque no es factible clinicamente encontrar injertos autólogos de tamaño adecuado para sustituir a la vena cava a menos que modele un injerto compuesto a partir de diversos trazos de venas pequeñas.

El uso reciente de dipiridamole y el descubrimiento de superficies antitrombóticas de injertos sintéticos ha mejorado la permeabilidad de las prótesis.

Es obvio que existe una gran necesidad de más investigaciones y desarrollo en el campo de las prótesis del sistema venoso si se quiere que estos métodos se apliquen con el mismo nivel de eficacia que las del sistema arterial. (12).

INJERTOS EN EL SISTEMA VENOSO.

La cirugía del sistema venoso siempre ha sido relegada a través de la historia a un segundo plano. En comparación de los procedimientos realizados en el territorio arterial, espectaculares y generalmente con buenos resultados, la cirugía del sistema venoso se caracterizaba por sus malos resultados, y el fantasma de la tromboembolia pulmonar hacía que el cirujano realizara pocos procedimientos y que inclusive considerará innecesaria la reparación en casos de traumatismo venoso. (27).

En 1966 se creó el registro vascular de Vietnam, en el Centro Médico Walter Reed del ejército Americano para documentar las lesiones vasculares de la guerra del sureste de Asia. Esto ha permitido analizar los resultados del manejo de estas lesiones, así como permitir un seguimiento a largo plazo. (30) (31) (33) (34) (36).

Las lecciones aprendidas en los campos de batalla hicieron avanzar mucho el conocimiento en el campo de la cirugía vascular, particularmente en el sistema venoso. El seguimiento a largo plazo de los pacientes hizo evidente que la ligadura de las venas de calibre importante como la poplítea, iliaca, axilar y cava, produjo secuelas importantes en un gran número de pacientes, encontrando insuficiencia venosa crónica que en ocasiones llegaba a ser incapacitante y que en algunos de los casos se manifestaba hasta 10 ó 15 años después de la cirugía. Así mismo se hizo evidente que la reparación de las lesiones en el sistema venoso contribuían a disminuir de manera importante el índice de amputaciones, sin una mayor incidencia de tromboembolia pulmonar o tromboflebitis y con una mortalidad del 1.7%. (27) (30) (31).

En estudios realizados posteriormente en modelos experimentales, se verificó que la ligadura de una vena importante se acompañaba de un aumento muy significativo de la presión venosa y de las resistencias periféricas, llegando a reducir el flujo arterial entre un 50 y 75% en las primeras 72 h de realizada la ligadura, lo cual se correlacionaba con el índice de amputaciones realizadas en los pacientes con ligadura venosa sin trauma arterial, y en algunos otros casos este factor contribuía el fracaso del injerto arterial. (27) (31) (34) (35).

Por tanto se comenzaron a realizar reparaciones venosas mediante diferentes técnicas: Sutura lateral, colocación de parche de safena, anastomosis termino-terminal, interposición del injerto de vena safena invertido, generalmente la contralateral e inclusive la colocación de injertos sintéticos del tipo del politetrafluoretileno en caso de lesiones vasculares extensas en los que no era posible obtener un injerto de safena o en los casos de que el calibre del vaso lesionado fuese muy grande. (31).

Durante el conflicto de Vietnam se realizaron por lo menos 86 reparaciones de lesiones venosas mediante la interposición de injertos de safena invertidos con buenos resultados, en ningún paciente se presentó tromboembolia pulmonar, en el 66% de los pacientes no se presentó edema secundario a largo plazo, de tipo residual. Estos resultados son muy superiores a los obtenidos en aquellos pacientes que fueron tratados mediante ligadura del vaso lesionado, en donde el 50.9% de los pacientes presentaron edema persistente. Además se observó que los injertos de safena toleran bien la infección y cuando llegó a ocluirse a largo

plazo, dió tiempo para el desarrollo de circulación colateral, e inclusive se ha documentado que estos injertos pueden recanalizarse. (6) (22) (27) (31) (35) (36) (37).

Los índices de permeabilidad a largo plazo de la vena autóloga, tanto en el territorio arterial como en el venoso, son altos, lo que ha hecho que actualmente se le considere como el injerto de primera elección, sin embargo existen circunstancias en las que no se puede contar con este magnífico recurso, ya sea por extirpación previa, patología de las mismas, aumentar el tiempo quirúrgico en la obtención de las mismas, existir la posibilidad de utilizarlas en la revascularización del miocardio, o por ser de longitud y diámetro insuficiente.

Por lo que la creación del sustituto vascular ideal continua siendo uno de los mayores retos a los que se enfrenta el desarrollo de la cirugía vascular. (11) (24) -- (25) (44).

El injerto ideal debe tener las siguientes características:

1. Ser durable, es decir, que no experimente cambios degenerativos durante la vida del paciente.
2. Ser de fácil manejo durante la cirugía.
3. Biocompatibles.
4. Con una superficie no trombogénica.
5. Resistencia a la infección.
6. Estar disponibles en el momento que se necesite, estériles y a un costo razonable.
7. Diferentes medidas.
8. Que tenga un índice de permeabilidad alto a largo plazo.
9. La elasticidad y distensibilidad de su pared ser lo más semejante a los vasos sanguíneos.

10. No ser cancerígeno.
11. No ocluirse su luz al ser doblados.
12. No dañar los elementos sanguíneos.

La utilización de injertos sintéticos en el sistema venoso en términos generales ha sido desalentadora la permeabilidad de estos injertos depende del segmento del árbol venoso substituido, ya que se ha observado en varios estudios, tanto clínicos como experimentales, que ese tipo de injertos es mejor tolerados en la vena cava superior y en la yugular, debido a que la presión torácica negativa y la fuerza de gravedad facilitan la circulación, en comparación de los injertos colocados en la vena cava inferior, la cual tiene un índice de permeabilidad mucho menor. (11) (24) (25) (44).

Se han identificado algunos otros factores que influyen en la permeabilidad a largo plazo de los injertos además del sitio anatómico, y estos son: una técnica quirúrgica depurada, un manejo cuidadoso de los tejidos, evitar las estrecheces en los sitios de las anastómosis, cuidando que la línea de sutura, que generalmente se realiza mediante un surjete continuo, no se apriete demasiado al anudar y evitar de esta manera el efecto de la jareta.

Otros factores que no son modificables, son el flujo a través del injerto, la falta de un endotelio y la trombogenicidad de las paredes del mismo (11).

Algunos de los estudios han obtenido mejores índices de permeabilidad al aumentar el flujo sanguíneo mediante la creación de fistulas arteriovenosas distales al injerto, sin embargo esto produce alteraciones hemodinámicas importantes y es seguida de la oclusión temprana del injerto al cerrar la fístula. (8) (11).

En los estudios clínicos en donde se colocaron injertos sintéticos por no poder utilizar la vena safena o para disminuir el tiempo operatorio, se observó que a los 7 ó 14 días cuando se realizaba la flebografía de control, se encontraban muy disminuidos de calibre o completamente -- ocluidos. (4).

Es por esto que los injertos sintéticos en el sistema venoso, salvo en casos muy seleccionados no son utilizados. (4).

CARACTERISTICAS DEL INJERTO DE POLITETRAFLUORETILENO

El injerto utilizado en esta investigación fué introducido por primera vez en 1975. Es blanco de superficie lisa, flexible, de paredes delgadas, puede producirse cierto grado de acortamiento si se somete a tracción sin que la prótesis se distorcione o se doble. Es inerte, mantiene su fuerza durante largos períodos de tiempo. Es manejable y se sutura fácilmente, ya que la aguja atraviesa fácilmente su pared y no se desgarran, además al no ser un material rígido, sus paredes no se adhieren. Debido a su estructura, esta prótesis no necesita precoagulación y el aire existente en su interior puede extraerse fácilmente antes de reanudar la circulación llenando la prótesis de sangre, ya que el aire se desplaza en forma inmediata a través de su pared. (1) (12) (18) (23).

Desde el punto de vista microscópico, su pared está formada por láminas orientadas trasversalmente de nódulos de politetrafluoretileno (PTFE) de alta densidad, interconectados por numerosas fibrillas de PTFE dirigidas en sentido longitudinal, que son delgadas, flexibles y fácilmente desplazables por elementos microscópicos. Los espacios vacíos que rodean esta estructura fibrolaminar representan el 80% del volumen de la pared del tubo. Para garantizar que no produzcan dilataciones aneurismáticas intrínsecas del injerto, el tubo está reforzado por una estructura sumamente abierta de PTFE expandido. El injerto por lo tanto es muy poroso al examinarse al microscopio, y la combinación del tamaño de los poros y de la superficie hidrofoba hace que el injerto sea fácilmente permeable al aire pero no a los líquidos a presiones fisiológicas. (1) (7) (41) - (42).

El tamaño de los poros es de 30 micras, su diámetro interno es de 5 mm y su pared ultradelgada. Es expandido y reforzado. El 85% del volumen que en un principio sólo contenía aire, se va llenando de microvesículas de líquido en las que existen proteínas. Al cabo de 48-72 hs. el espacio aéreo de la pared está ocupado por elementos de la sangre, en su mayoría fibrina, eritrocitos y leucocitos. Casi de inmediato se forma sobre la superficie interna una fina capa de material proteico de unas 25 a 30 micras de grosor, que tienen un contenido muy bajo de componentes capaces de atraer plaquetas y agentes trombógenos. En el humano esta capa permanece siempre acelular es de aspecto brillante, lisa y firmamento adherida a la superficie interna de la luz del injerto (12).

Nunca se ha observado en el ser humano el desarrollo de células endoteliales más allá de 1.5 a 3.5 cm de las anastomosis, lo cual es similar para otros tipos de injertos vasculares. (12).

Se ha mencionado en la literatura que las prótesis -- que permanecen permeables en animales de experimentación, -- particularmente en el perro se puede alcanzar una endotelización completa del injerto que surge a partir de ambas anastomosis, lo cual difiere completamente en el humano. (12).

Existen también pruebas experimentales en el modelo canino de que la siembra de células endoteliales acelera la endotelización completa de esa superficie interna, reduciendo la trombogenicidad. No se han aportado pruebas definitivas de que esta siembra endotelial aumente la prótesis. (12).

Se ha demostrado que las células totipotenciales la sangre son capaces de formar un endotelio y si este es sufi

cientemente delgado, puede permanecer viable, nutriendose -- por medio de difusión a partir de la sangre. Sin embargo se considera más apropiado que la nutrición de esta neointima - sea por medio de capilares que crezcan a través de la pared del injerto. Se ha determinado que entre más pequeño es el tamaño del poro se obtiene una mayor permeabilidad y una mejor endotelización. Ya que los poros muy grandes, entre 300 y 100 micras de diámetro desarrollaban hiperplasia fibrosa - de la íntima, y trombosis. Por lo que se ha concluido de varios estudios realizados, que el tamaño del poro, en estos tipos de injerto y algunos otros similares, constituye uno de los factores determinantes de crecimiento de los tejidos, ox endotelización y permeabilidad a largo plazo, siendo el diámetro ideal entre 20 y 30 micras de diámetro. (1) (7) (13) - (42).

Por otro lado se ha observado que en el exterior del injerto se forma una capa de tejido conjuntivo alrededor del injerto, lo cual favorece de forma lenta y progresiva, la pe netración de fibroblastos productores de colágena en la pared del injerto, entre sus poros, fenómeno que persiste durante años y que en caso de tratarse de poros grandes se agiliza de manera importante, incrementandose la proliferación de fibro blastos, lo cual se cree es un factor importante de la oclusión temprana, creándose una hiperplasia fibrosa de la íntima. (12).

Se han realizado estudios desde el punto de vista fisiológico en los que se han determinado que existe una velo cidad mínima a la que debe circular la sangre para que el in jerto permanezca permeable, y es muy probable que esta velocidad mínima es mucho mayor en el caso de injertos de vena - autóloga, lo que en parte explica la alta tasa de permeabili dad de los injertos autólogos en sitios de alto riesgo para

los injertos de vena autóloga, lo que en parte explica la alta tasa de permeabilidad de los injertos autólogos en sitios de alto riesgo para la trombosis como es la - arteria poplítea o los puentes femoropoplíteos. (12).

Algunas otras ventajas de este tipo de injerto es que tiene un diámetro uniforme, prácticamente es imposible que se tuerzan, particularmente si tienen una gufa de color, lo que facilita el colocarlos en posición correcta y están disponibles en diferentes medidas, estándares, para utilizarse en el momento que se necesite invertir tiempo quirúrgico en la obtención del injerto. (42) (48).

Una desventaja teórica que en la práctica no es de tanta importancia es el sangrado que se presenta por los orificios que hace la aguja al pasar por la pared - del injerto en la línea de sutura, particularmente cuando se compara con los injertos de vena autóloga. Sin embargo estos se resuelven fácilmente mediante comprensión por algunos minutos de las anastomosis e inclusive mediante la reversión de la heparina y en general es - raro. (3) (21) (43).

TECNICA DE SEMBRADO DE CELULAS ENDOTELIALES

El concepto de derivación de células endoteliales para sembrado de injertos vasculares fué descrito por primera vez en 1978 por el Dr. Malcolm Herring Indianapolis. En su inicio se obtenían las células endoteliales mecánicamente mediante rastrillo de acero, raspando el endotelio de las venas, lo cual tenía sus desventajas ya que las células derivadas de esta manera no eran exclusivamente endoteliales, sino que también se encontraban múltiples células de la capa muscular. Además el número de células endoteliales obtenidas era mucho menor del obtenido mediante la derivación enzimática, por otro lado se producía también daño celular utilizando el método mecánico. (9) (10) (16).

Posteriormente la M.C. Graham Linda M. ideó el método de derivación de células endoteliales por medios enzimáticos, utilizando tripsina y colagenasa, lo cual permitió obtener aproximadamente 0.5 a 1.5×10^6 células endoteliales de cada vena yugular aproximadamente de 12 cm de largo por 6 mm de diámetro según los estudios experimentales realizados en el perro.

Además la población de células endoteliales obtenidas mediante este método practicamente es pura, observandose un porcentaje de células provenientes de músculo liso menor al 10% -- del total de células obtenidas, según se observó en cultivos a las dos semanas. (9) (10).

Las principales ventajas del sembrado de células endoteliales de los injertos vasculares son:

1. La creación de una superficie no trombogénica, biocompatible, que actúa como interfase entre la sangre y las paredes del injerto, capaz de regenerarse y producir pros-

taglandinas que actúan como antiagregantes plaquetarios fundamentalmente PGI_2 , además de que teóricamente la creación de un endotelio disminuye las posibilidades de infección de las prótesis vasculares. (9) (10) (16) (28) (45) (47).

Algunos factores conocidos que determinan la eficacia del sembrado de células endoteliales en injertos vasculares son: La cantidad de células endoteliales derivadas, la adherencia de esas células al injerto, la pérdida inicial de las células sembradas y la capacidad de reproducirse de las células derivadas. (49).

Se ha observado en estudios experimentales que el tiempo requerido para obtener una endotelización completa del injerto es de 4 a 6 semanas. (16) (28) (49).

Es cortes histológicos con tinción de hematoxilina y eosina se ha observado un endotelio de células planas, hexagonales, de núcleos prominentes orientadas axialmente y bien organizadas, e inclusive se ha observado el desarrollo de vasos sanguíneos a través de las paredes del injerto, los cuales a largo plazo contribuyen a la nutrición de células, las cuales se nutren principalmente por difusión a partir de la sangre. Mediante tinciones especiales, Metenammina-plata según la técnica de Jones, se ha observado el desarrollo de la membrana basal en los injertos sembrados con células endoteliales. (16) (38).

Por otro lado al ser estudiados los injertos con microscopía electrónica se ha observado que estas células planas de núcleo prominente que recubren los injertos presentan un área citoplásmica prominente alrededor del núcleo, la cual contiene un retículo endoplásmico rugoso y aparato de golgi bien desarrollados, así como numerosas mitocondrias y vesículas, lo cual refleja la actividad de síntesis de sub

tancias como las prostaglandinas en especial la PGI_2 , la cual es vasodilatadora e inhibidora de la adhesividad plaquetaria y de ATP necesaria para las diversas funciones celulares. Otras características importantes observadas en la microscopía electrónica es la unión intercelular estrecha de las membranas celulares, lo cual las hace prácticamente impermeables a la sangre. (14) (38) (45).

Los resultados obtenidos en investigaciones previas utilizando esta técnica en injertos colocados en el sistema arterial del perro, muestran que el grado de endotelización de los injertos oscila entre los 60 y 90% según las diferentes referencias bibliográficas, utilizando generalmente injertos de politetrafluoretileno o de Dacron y en algunos casos de colágena ovina, mejorando su permeabilidad a largo plazo, aumentando la superficie libre de trombo y disminuyendo el consumo de plaquetas marcadas con isótopos radioactivos. (14) (38) (45).

Según las observaciones realizadas con microscopía óptica y electrónica se cree que probablemente un segmento de vena de 4 mm de diámetro y de 6 a 8 mm de longitud serían suficientes para sembrar injertos de 5 mm de diámetro y de 30 a 40 cm de longitud, ya que se ha visto que aunque inicialmente las células endoteliales sembradas en los injertos se encuentran dispersas y separadas, estas se reproducen y llegan a crear un endotelio que en algunos de los casos, logra recubrir la superficie interna en la totalidad del injerto. Una vena de fácil abordaje y que se puede extirpar sin producir ninguna secuela es la vena yugular externa, aunque cualquier otro tipo de vena puede ser utilizada. (9) (10).

Los injertos vasculares colocados en el sistema veno

so tienen una incidencia muy alta de trombósis a corto plazo, lo que se piensa es debido a la menor velocidad del flujo y a la trombogenicidad del injerto utilizado, factores que probablemente pueden modificarse mediante la endotelización del injerto. (2) (5) (8) (14) (17) (20) (29) (40).

Por otra parte se ha intentado aumentar la velocidad del flujo en los injertos venosos colocados en el sistema venoso, creando fístulas arteriovenosas distales a los injertos, favoreciendo la permeabilidad a corto plazo, sin embargo tanto en el terreno experimental como en el clínico la creación de estas fístulas y su presencia durante -- tiempos prolongados no es inocua, presentándose complicaciones cardíacas importantes. Además se ha observado que los injertos se ocluyen rápidamente una vez que se cierran dichas fístulas. (11) (15) (19) (28) (39) (46).

II JUSTIFICACION

A la fecha el sustituto vascular ideal no ha sido encontrado y la vena autóloga constituye, como ya mencionamos, el injerto de elección en las reconstrucciones vasculares,-- siendo esto aún más importante en el sistema venoso, donde - los injertos sintéticos tienen una mayor probabilidad de trombosis. Sin embargo, hay ocasiones en las que por extirpación previa, patología, por aumentar el tiempo quirúrgico en la obtención de la misma, por existir la posibilidad de utilizar en la revascularización del miocardio o por ser de calibre y longitud inadecuada, no se puede contar con ella. Creando - la necesidad de una alternativa confiable.

Es por esto que en la actualidad, la obtención de un injerto vascular ideal continua siendo uno de los retos más grandes dentro del desarrollo de la cirugía vascular, particularmente en el sistema venoso, donde la experiencia con injertos sintéticos es muy reducida y generalmente desalentadora.

III HIPOTESIS

La creación de un endotelio a lo largo del injerto de politetrafluoretileno (PTFE) mediante la derivación enzimática y sembrado de células endoteliales a partir de la vena autóloga, mejorará la permeabilidad del injerto evitando los trombos murales en el sistema venoso.

IV OBJETIVOS

Mejorar la permeabilidad de los injertos sintéticos de PTFE, creando un endotelio a lo largo de todo el injerto mediante la derivación enzimática de células endoteliales.

V MATERIAL Y METODOS

POBLACION

Se utilizaran para este estudio perros mestizos seleccionados según los criterios detallados a continuación: Se formaron 3 grupos, cada uno de 5 perros.

El grupo testigo estará representado por los animales a los que se les sustituya la vena iliaca por vena yugular - autóloga invertida. El grupo experimental estará representado por los otros dos grupos, a 5 animales se les colocará el injerto de PTFE sin sembrado de células endoteliales y en el último grupo será a los que se les coloque el injerto de PTFE con sembrado de células endoteliales de vena autóloga.

CRITERIOS DE INCLUSION, EXCLUSION Y ELIMINACION

Inclusión: Perros mestizos de 15 - 20 kg de peso, machos o hembras en perfecto estado de salud al examen clínico preoperatorio, premedicados un día antes de la cirugía, y que los animales hayan terminado su período de observación y de paracitación de rutina.

Exclusión y/o eliminación: Hembras gestantes, perros - que mueran en posoperatorio inmediato (24 Hs), además de animales que desarrollen oclusión del injerto en las 24 hs del posoperatorio.

CARACTERISTICAS DEL INJERTO POLITETRAFLUORETILENO (PTFE).

Los injertos utilizados fueron blancos de una longitud de 10 cm y con un diámetro uniforme de 5mm., de pared lisa, delgada y flexible y con poros de 30 micras, produciendose - cierto grado de acortamiento si se somete a tracción sin dis torcionarse o doblarse. Su pared esta formada por láminas - orientadas transversalmente de nódulos de politetrafluoretileno de alta densidad interconectadas por numerosas fibrillas de PTFE dirigidas en sentido longitudinal, que son delgadas y flexibles, además esta reforzado por una estructura sumamente abierta de PTFE expandido.

El injerto antes de ser colocado se sometía a tracción para verificar su tamaño real asegurando así el tamaño preciso a implantar.

TECNICA DE SEMBRADO DE CELULAS ENDOTELIALES

En esta investigación las células endoteliales fueron obtenidas por derivación enzimática de las venas yugulares externas, se removieron dos segmentos de las venas yugulares externas, y fueron evertidos sobre rodillos de acero inoxidable y suspendiéndose previa agitación en solución salina fisiológica (SSF) helada durante 3 min. Posteriormente se incubaron en SSF con tripsina en Ph de 7.3 y temperatura de 37C, durante 20 min., en solución Hartman y colagenasa a Ph y temperatura controlada, luego se agitaron 40 seg. y sumergieron inmediatamente después en medio 199 a 37 C volviendo a agitar, estas últimas soluciones son centrifugadas por 5 min.,-obteniéndose células endoteliales que fueron suspendidas en medio 199 y mezcladas con sangre y heparina, formando una solución que se utilizó para sembrar los injertos, irrigándolos 10 veces cada uno.

TECNICA QUIRURGICA

Para el grupo testigo: Un día antes de la cirugía se aplicaron 375 mg de ácido acetil salicílico (VO) como antiagregante plaquetario, siendo esto el preoperatorio. En el transoperatorio se ocupó pentobarbital sódico como anestésico a dosis de 28 mg por kg de peso (IV) durante toda la cirugía y a criterio del cirujano dentro de la operación para -- conservar el plano anestésico, poniendo solución ringer lactato para mantener el volumen de fluidos a una velocidad de 10 - 15 ml/kg/h (IV). Se incidió a lo largo del trayecto de la vena yugular externa de 10-15 cm disecándose por planos hasta la localización de dicho vaso, ligando sus afluentes y anudando los extremos para retirar el segmento. Se colocó la vena en un riñón con solución Hartman con heparina e irrigándose con punzocat hasta que quedó libre de coágulos, se guió de hemostasis minuciosa y cierre de la herida quirúrgica por planos. En el tiempo abdominal se realizó una incisión en línea media por planos y en macho se incidió en bayoneta para repeler el pene con hemastasis meticulosa. Abierta la cavidad se rechazaron las vísceras con compresas húmedas y se disecaron los vasos iliacos con cuidado de no dañar el ureter refiriendo la vena iliaca desde su origen hasta su confluencia con la vena cava, pinzando y ligando sus dos extremos, así como sus afluentes, previamente se inyectaron -- .5-1 mg de heparina por kg de peso vivo (IV) para evitar la coagulación, y se seccionó la vena iliaca extirpándola, realizando una anastomosis termino-terminal a cada extremo por el método de triangulación mediante surgete continuo con la vena autóloga invertida con prolene del 6 - 0.

Cuando se presentó la condición de una hemorragia incontrolable se utilizó protamina para revertir el efecto de la heparina a dosis de 1 mg por mg de heparina. Al terminar se verificó que se llenara de sangre el injerto. Finalmente se suturo por planos la pared abdominal.

Para los grupos experimentales los perros que recibieron el injerto sin sembrado de células endoteliales existió la diferencia de que no se extirparon las venas yugulares, por lo tanto sólo se ocupó el tiempo abdominal con la metodología descrita anteriormente.

Los perros que recibieron el injerto de células endoteliales tuvieron la diferencia de que se tomaron dos trozos de vena yugular, uno de cada lado del cuello para obtener suficientes células endoteliales en el procedimiento del sembrado de células endoteliales para su implantación.

Como paso común al terminar la cirugía, se aplicó penicilina G procaínica 200,000 U.I. con penicilina cristalina 600,000 UI (IM) para evitar infecciones. En el posoperatorio se aplicó dipirona como analgésico durante las 48 horas siguientes a dosis de 500 mg (IM), además de los antibióticos antes mencionados por 10 días y ácido acetil salicílico a dosis de 375 mg (VO) durante el resto de la investigación. Además los cuidados generales se basaron en ejercitar al animal y limpieza de la herida hasta cicatrizar.

DEFINICION DE LAS VARIABLES

Permeabilidad del injerto: Variable cualitativa opciones: Permeable y ocluido: Para determinar esta variable se realizará una flebografía al mes y tres meses después de colocado el injerto.

Grado de endotelización: Cualitativa. Opciones: Presencia o ausencia de células endoteliales en los cortes realizados a las distancias establecidas: Se realizarán cortes a un centímetro de las anastomosis y a la mitad del injerto y se hará un frotis que será teñido con hematoxilina y eosina revisandolos con microscopio óptico. Los resultados de las variables de permeabilidad y grado de endotelización se presentaran en figuras de barras y líneas, además de cuadros para mejorar comprensión y visualización.

VII RESULTADOS

Grupo Control: Al realizarse las flebografías al mes y tres meses se observó el paso del material de contraste a través del injerto hasta la vena cava inferior, sin encontrar trombos murales y sólo un animal con escasa red venosa colateral (cuadro 1 y 2), teniendo todos los animales una permeabilidad del 100% al mes y tres meses (cuadro 1 figura 1, 2 y 3). En algunos animales se observo disparidad entre el injerto venoso y la vena ilíaca externa en las flebografías, pero no se observo a ningún tiempo del experimento injurgitación venosa, ni edema de la extremidad donde se colocó el injerto.

Grupo Experimental: En los animales sin sembrado de células endoteliales se realizaron las flebografías cuando clínicamente se consideró que el injerto se había ocluido, observandose que el medio de contraste pasaba a través de una abundante red venosa colateral de la iliaca interna hacia la iliaca externa contralateral y pared abdominal, llegando así el medio de contraste a la vena cava inferior (cuadro 1) encontrando en todos los animales hiperplasia fibrosa de la íntima, coagulos e infiltración fibroblástica sin células endoteliales (cuadro 1 figura 1 2 y 3), además en todos los animales se encontro injurgitación venosa de la extremidad y edema entre el segundo y quinto día posoperatorio.

De los animales con sembrado de células endoteliales y realizandose las flebografías cuando se considero que el injerto se había ocluido y se observo que el medio de contraste pasaba por una extensa red venosa hacia la

cava inferior de la misma manera que el injerto sin sembrado de células endoteliales (cuadro 1) encontrando hiperplasia fibrosa de la intima, coagulos e infiltración-fibroblastica, además de células endoteliales sin cuantificar su número (cuadro 2), la permeabilidad encontrada fue del 0% en todos los animales se encontro edema e injurgitación venosa posoperatoria (cuadro 1, figura 1, 2 y 3).

VIII CONCLUSIONES

Es factible crear un endotelio en injertos sintéticos mediante la derivación enzimática a partir de la vena autóloga.

La endotelización de los injertos no evitó que los injertos se ocluyeran, lo cual hace pensar que probablemente el factor principal de la trombogenicidad sea el bajo flujo a través del injerto que se tiene en el sistema venoso.

Hasta el momento actual el injerto ideal aun no se ha encontrado, siendo el de primera elección la vena autóloga, tanto en el sistema venoso como en el arterial.

El uso de antiagregantes plaquetarios como el ácido acétil salicílico no evitó que se produjera la oclusión de los injertos, la cual se vio favorecida por la hiperplasia fibrosa de la íntima en los sitios de las anastomosis.

El desarrollo de red venosa colateral a través de la iliaca interna y ramas de la pared abdominal evitó el edema crónico y la incapacidad de la extremidad ipsilateral del injerto.

En los casos de injerto de vena autóloga que no se ocluyo se demuestra que la técnica quirúrgica es correcta.

IX CUADROS Y FIGURAS

CUADRO DE DATOS. FLEBOGRAFIAS REALIZADAS

GRUPO	FECHA	PERMEABILIDAD *	RED VENOSA COLATERAL *
V.Y.A.	3 MESES	5	1.
P.T.F.E. S.S.	1 MES	0	5.
P.T.F.E. C.S.	1 MES	0	5.

V.Y.A.: Vena Yugular P.T.F.E.: Politetrafluoretileno.

S.S.: Sin sembrado de células endoteliales.

C.S.: Con sembrado de células endoteliales.

* No. de Perros.

CUADRO DE DATOS. ESTUDIO MICROSCOPICO

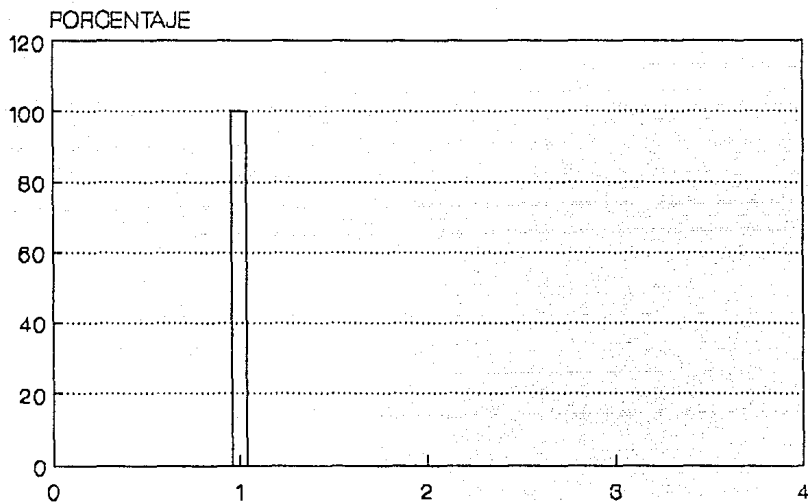
G R U P O	ENDOTELIO	HIPERPLASIA FIBROSA INTIMA	COAGULOS	INFILTRACION FIBROBLASTICA
V.Y.A.	5	0	0	0
P.T.F.E. S.S.	0	5	5	5
P.T.F.E. C.S.	5	5	5	5

V.Y.A.: Vena Yugular Autóloga P.T.F.E.: Politetrafluoretileno.

S.S.: Sin sembrado de células endoteliales.

C.S.: Con sembrado de células endoteliales.

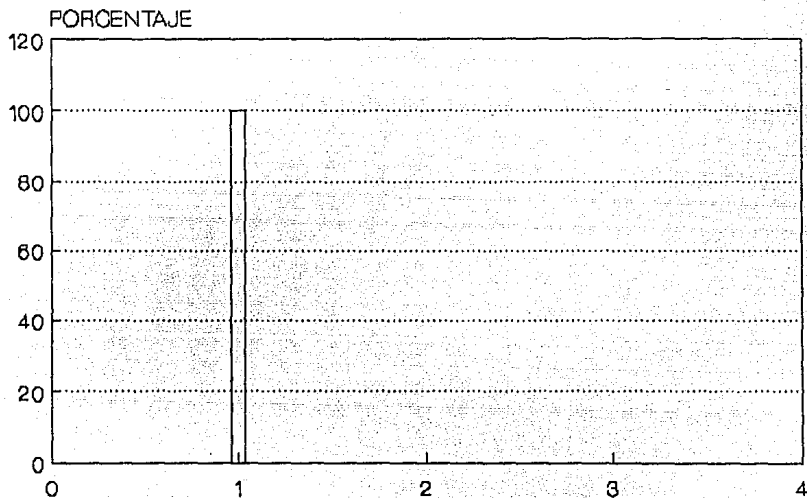
PERMEABILIDAD AL MES DEL INJERTO VENOSO



□ FIGURA 1

- 1 VENA YUGULAR AUTOLOGA
- 2 P.T.F.E. SIN SEMBRADO
- 3 P.T.F.E. CON SEMBRADO

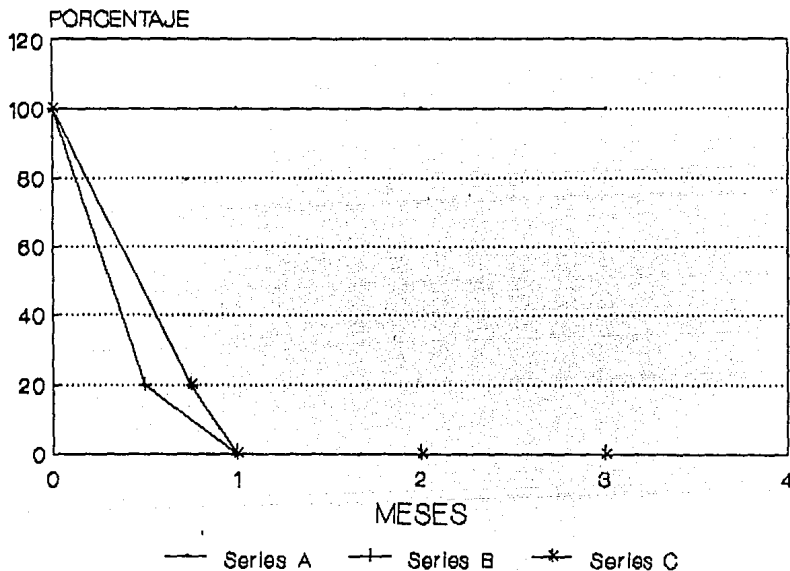
PERMEABILIDAD A LOS TRES MESES



□ FIGURA 2

- 1 VENA YUGULAR AUTOLOGA
- 2 P.T.F.E. SIN SEMBRADO
- 3 P.T.F.E. CON SEMBRADO

PORCENTAJE DE PERMEABILIDAD A 3 MESES



SERIE A: VENA YUGULAR AUTOLOGA
SERIE B: P.T.P.E. SIN SEMBRADO
SERIE C: P.T.P.E. CON SEMBRADO

FIGURA 3

LITERATURA CITADA:

1. Campbell Ch: A small arterial substitute, Expanded microporous polytetrafluoroethylene: patency versus porosity. Ann Surg. 122: 133 (1975).
2. Dale, W. A: Grafts of the venous sistem. Surgery 53 -- 52-73 (1963).
3. Effer, B: The simple approach to direct coronary artery surgery. Thorac Cardiovasc. Surg. 62: 503-510 (1971).
4. Feliciano: Five year experience with PTFE grafts vascular wounds. J. Trauma 25 (1): 71-82 (1985).
5. Ford, J. J.: Methods for Macroscopic and microscopic analysis of experimental implanted prosthetic vascular grafts Biologic and Synthetic Vascular prostheses. New York 1972, Statton 259.
6. Gianni A: A surgical preparative technique for Coronary Bypass grafts of human saphenous vein whit Preserves medial and endothelial functional integrity. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 35: 393-398 (1967).
7. Gazzaniga A: Arterial prosthesis of microporous expanded polytetrafluoretilene for construction of aortopulmonary shunts. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 72: 50 --- (1976).
8. Glaviano P.: Experimental replacement of the inferior vena cava: Factors affecting patency. Surgery 95: 657-662 (1984).
9. Graham L: Endothelial Cell seeding of Prosthetic Vascular Grafts. Arch Surg. 115: 829-833 (1980).
10. Graham L: Immediate seeding of enzymatically derived-endothelium in Lacron vascular grafts. Arch Surg. 115: 1289-1293 (1980).

11. Haimovici H: An experimental and clinical evaluation of grafts in the venous system. Surg. Gynecol. Obstet. 10:1173;1186 (1970).
12. Haimovici H: Cirugía Vascular: Principios y Técnicas Ed. Salvat, Barcelona España, 1986 10 edición.
13. Haimovici H: Ideal Arterial graft: An unmet challenge, scope and limitations. Surgery 92:117-119 (1982).
14. Hasegawa T: Prosthetic replacement of the superior - Vena Cava, anti-platelet-adhesive drug influence. -- Arch surg 106:845-850 (1973).
15. Herriman L: Endothelium develops on seeded human arterial prosthesis: a brief clinical note. Vasc. Surg. 2:727 (1985).
16. Herring M: Seeding arterial prostheses with vascular endothelium. Ann Surg. 190 (1):84-90 (1978).
17. Hiratsuka L. P: Experimental and clinical results of grafts in the venous system. A current review. J. -- Surg. Res. 25 (6):542-551 (1978).
18. Jennings R: Use of micro porous expanded polytetrafluoroethylene grafts for aorta-pulmonary shunts in infants with complex cyanotic heart disease. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 75:409-424 (1978).
19. Kempozinsky: Endothelial cell seeding of a new P.T.F.E. Vascular Prothesis. J. Vasc. Surg. 13:424 (1981).
20. Kunlin J: Experimental venous surgery of the veins of the legs and pelvis. Thieme Verlag 38:37-75 (1979).
21. Marragani A: Vascular grafts in microvascular surgery. Am J. Surg. 155:258-262 (1987).
22. Menzies J: A comprehensive approach to extremity Vascular Trauma. Arch Surg. 121:801-805 (1985).

23. Molina E: Coronary Bypass with Gore-Tex graft. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 75 (5):769-771 (1978).
24. Moore T. C: Experimental replacement and bypass - of large veins. Bull Int. Chir 23:274 (1964).
25. Moore T. C: Superior vena cav replacement. III - Successful. Use of autogenous aorta. Surgery 44: 898 (1958).
26. Murtra M: Long term patency of P.T.F.E. vascular grafts in coronary artery surgery. Ann Thorac -- Surg. 39:86 (1985).
27. Nankram A: Experience with 115 civilian venous - injuries. J. Trauma 22:827-832(1982).
28. Plate G: Endothelial seeding of venous prostheses. Surgery 42:929-936 (1984).
29. Plate G: Results of early reconstruccion in acute iliac vein obstruction using P.T.F.E. grafts. A. - Chir Scan. 36:506-509 (1981).
30. Rich N: Acute arterial injuries in Vietnam: 100 -- cases. J. Trauma 17:53 (1977).
31. Rich N: Autogenous vein interposition grafts in -- repair of mayor venous injuries. J. Trauma 17 (7): 512-520 (1977).
32. Rich N: Interposition grafts in repair of mayor - venous inuries. J. Trauma. 17:513-520 (1977).
33. Rich N: Management of vencus injuries. Ann. Surg. In press (1989).
34. Rich N: Political artery injuries in Vietnam. Am. J. Surg. 118:531-534 (1970).
35. Rich N: Repair of lower extremity venous trauma: a more agressive approach requered. J. Trauma 14: 633-643 (1974).

36. Rich N: Vietnam vascular registry, an initial report Surgery 65:218-236 (1970).
37. Roger M: Derivación in situ de vena safena para enfermedad oclusiva de la extremidad inferior. Clin. - Quir. Nort. 4:60 (1988).
38. Rojas G: Sembrado endotelial en bioprotesis de colágena ovina. Rev. Mex. Ang. XV (1987).
39. Rosenman J. E: Endothelial cell seeding improves patency of small diameter dacron grafts and facilitates the development of a complete endothelial flow surface. J. Vasc. Surg. 2:778 (1985).
40. Russell. Ross: The pathogenesis of atherosclerosis. N. Engl. J. Med. II:369-377 (1976).
41. Sánchez F: Implantes vasculares. Cir. Cir. 55:101-109 (1988).
42. Sapsford R: Early and late patency of expanded -- P.T.F.E. vascular grafts in aorto-coronary bypass. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 81 (6):860-864 (1981).
43. Sauvage L: Current arterial prostheses. Arch Surg. 114:688 (1979).
44. Scannell J: Surgical reconstruction of the superior vena cava. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 28:163 -- (1954).
45. Sharefkin J: Early normalization of platelet survival by endothelialization seeding of dacron arterial prostheses in cows. Surgery 92:385 (1982).
46. Smith. S: A small diameter vascular prostheses: Two designs of P.T.F.E. and endothelial cell seeded and non seeded dacron. J. Vasc. Surg. 12:434 (1985).
47. Sottiurai V: Intimal hiperplasia and neointimal -- and ultrastructural analysis of thrombosed grafts in humans Surgery 93:809-817 (1983).

48. Yokoyama T: Aorta coronary artery revascularization with expanded P.T.F.E. vascular grafts. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 76:552-555 (1978).
49. Zilla P: Endothelial cell seeding of P.T.F.E vascular grafts in humans: a preliminary report. J.Vasc. Surg. 6: 535-541 (1987)