

Aloinjertos arteriales criopreservados en «limb salvage»: experiencia personal⁽¹⁾

Cryopreserved arterial allografts in critical ischaemia: personal experience

Luis Miguel Izquierdo*, Josep M.^a Simeón* - Adela Miralles** -
M.^a Teresa Serrano*** - Josep M.^a Capdevila*

Servicio de Cirugía Vascular
(Jefe de Servicio: Josep M.^a Capdevila Mirabet)
Hospital Universitari de Bellvitge
L'Hospitalet de Ll., Barcelona (España)

RESUMEN

Objetivo: Analizar nuestros resultados en la utilización de aloinjertos criopreservados para revascularizaciones infrageniculares en ausencia de Vena Safena.

Material y métodos: Entre enero de 1995 y abril de 1996 hemos implantado 17 arterias criopreservadas. De ellas, 12 fueron by-pass infrageniculares por «limb salvage» y los otros 5, por infecciones protésicas del sector aorto-ilíaco. Las arterias, obtenidas en un protocolo de extracción multiorgánica, fueron sometidas a un programa de criopreservación con dimetilsulfóxido al 15% como citoprotector y almacenadas a -140°C.

En los 12 by-pass infrageniculares la indicación en 9 casos fue por una isquemia crítica y los otros 3 por una isquemia subaguda severa. Ningún enfermo disponía de Vena Safena utilizable y en 2 de los casos existía infección de una prótesis infrainguinal implantada previamente. Se constató la compatibilidad ABO y Rh y no se instauró tratamiento inmunosupresor. La implantación se hizo en forma de by-pass fémoro-tibial anterior en 3 casos, de la ilíaca externa a 3.^a porción poplítea en otros 3, desde la femoral superficial a la tibial posterior maleolar en 2 casos, desde la ilíaca externa al tronco tibio-peroneo en 1 caso, 1 fémoro-pedio, 1 fémoro-peroneo y 1

ilio-tibial posterior. El seguimiento clínico y con Eco-Doppler se realizó cada 3 meses. Se practicó biopsia y estudio histológico en los injertos ocluidos.

Resultados: Hemos tenido un exitus. Hemos observado 3 oclusiones, una precoz y 2 a los 7 meses, resultando una tasa de permeabilidad acumulada primaria del 91% a los 1, 3, 6 y 9 meses y del 45% a los 15 meses. En 4 casos fue necesaria la amputación, con una tasa de conservación de extremidad del 66%. En la histología de los injertos ocluidos se apreció conservación de la estructura arterial y en 2 casos un infiltrado celular sugestivo de rechazo crónico. No hemos observado degeneraciones aneurismáticas ni estenosis hemodinámicamente significativas en los injertos seguidos.

Conclusiones: Aunque es ampliamente aceptado que la Vena Safena autóloga es el mejor material para las revascularizaciones distales, sugerimos que los aloinjertos criopreservados pueden ser una alternativa válida cuando no se dispone de aquella. A pesar del escaso número de casos y el corto período de seguimiento de nuestra serie creemos esperanzadora esta experiencia inicial.

Palabras clave: Aloinjertos arteriales; isquemia crítica; vasos sanguíneos criopreservados; transplante de vasos sanguíneos.

SUMMARY

Objective: To analize our preliminary results with cryopreserved allografts as an alternative conduit in infragenicular revascularizations when autogenous saphenous vein is not available.

Materials and methods: Between January 1995 and April 1996, 17 cryopreserved arterial grafts were implanted, 12 in-

* Servicio de Angiología y Cirugía Vascular. CSUB

** Laboratorio de Criobiología. CSUB

*** Servicio de Anatomía Patológica. CSUB

⁽¹⁾ Comunicación presentada en el Congreso Nacional de Barcelona, junio 1996.

fragenicular for limb salvage and 5 as a substitute of aortoiliac graft infection. Arteries were obtained as a part of a protocol for multiorgan harvesting for transplantation. Programmed cryopreservation with 15% dimethylsulfoxide (citoprotectant) was used and stored at -140°C.

Indications for infragenicular by-pass were limb threatening ischemia in 9 cases and subacute ischemia in 3. Autogenous saphenous vein was not available in any of the cases. In 2 cases infection of a previous infrainguinal prosthetic by-pass was present. ABO and Rh compatibility have been always matched. None immunosuppressive therapy was given. The surgical procedures were: femoro-anterior tibial by-pass in 3 cases, 3 from external iliac artery to below knee popliteal, 2 femoro-posterior tibial maleolar, 1 from external iliac to tibio-peroneal trunk, 1 femoro-peroneal, 1 femoro-pedal an 1 ilio-posterior tibial by-pass. Clinical evaluation and Duplex examination were carried out every 3 months as follow up. Biopsies and histologic studies were only performed in occluded grafts.

Results: There was only one death during the post operative period. We have observed 3 graft occlusions, 1 early and 2 at 7 months, resulting in primary cumulative graft patency rates of 91% at 1, 3, 6 and 9 months and 45% at 15 months, respectively. Amputation was needed in 4 cases with a limb salvage rate of 66%. Histologic examination of occluded grafts revealed preservation of arterial structure and in two cases cellular infiltrate of the arterial wall suggested chronic rejection. We have not observed neither aneurysms nor stenosis during the follow up period.

Conclusion: Autogenous Saphenous Vein is the best graft material for distal revascularizations. Cryopreserved allografts are an alternative when autogenous vein is unsuitable. Despite this is a short serie with short follow up period, we think our initial experience is promising.

Key words: Arterial allografts; critical ischaemia; cryopreserved blood vessels; vessel transplantation.

Introducción

La búsqueda de materiales alternativos a la Vena Sáfena y a las prótesis para revascularizaciones y la utilización de los aloinjertos no es nueva en nuestro equipo. Ya en 1964, uno de nosotros implantó venas conservadas frescas con procedimiento de revascularización iterativa en 12 casos, la mayoría de los cuales fracasó por trombosis del segmento o por rechazo precoz (1).

A finales de 1994 nos vimos obligados a sustituir una prótesis infectada, implantando una arteria criopreservada procedente del Banco de arterias de St. Etienne y, a partir de entonces, hemos incorporado esta línea de trabajo en nuestro Servicio del Hospital Universitari de Bellvitge.

Tomando como referencia las experiencias llevadas a cabo en París por Kieffer (sustitución de prótesis infectadas por aloinjertos arteriales conservados) y por el grupo de Barral en St. Etienne (revascularización mediante aloinjertos criopreservados por «limb salvage»), iniciamos en nuestro Centro un protocolo para la obtención y criopreservación de arterias, creando un banco para su almacenamiento e iniciando posteriormente su aplicación clínica.

En este trabajo hemos realizado nuestra experiencia inicial en la utilización de aloinjertos arteriales criopreservados en el campo de revascularizaciones distales para la preservación de una extremidad.

Material y métodos

Entre enero de 1995 y abril de 1996 hemos implantado un total de 17 aloinjertos arteriales criopreservados, 5 de ellos por infección protésica en el sector aorto-ilíaco. Los 12 restantes, que es la población de este estudio, se implantaron para revascularizar extremidades con isquemia crítica. La serie incluye 9 varones (75%) y 3 mujeres (25%), con una edad media de 69,5 años (r=54-82). Todos los enfermos presentaban los factores de riesgo cardiovascular habituales, observando que en 5 casos coexistían más de dos factores y más de 3 en tres pacientes.

Los segmentos arteriales fueron obtenidos en el curso de extracciones multiorgánicas de la Unidad de Transplantes de nuestro Hospital. Se rechazaron inicialmente los donantes mayores de 55 años, los que tenían antecedentes de patología vascular y los que incumplían los criterios de selección habituales (antecedentes infecciosos, neoplasia activa, tratamiento prolongado con corticosteroides, etc...). Se desestimaron también aquellos donantes en los que durante la extracción se observaron lesiones macroscópicas arterioscleróticas en el árbol arterial.

Tras realizar tomas de muestras para los controles de calidad establecidos, microbiológicos y anatomo-patológicos, las arterias fueron sumergidas en una so-

lución de cultivo celular y antibióticos, en espera de ser sometidas al procedimiento de criopreservación; el tiempo de espera no sobrepasó en ningún caso las 24 horas en los casos de isquemia fría y de 6 horas en los de isquemia caliente. Una vez en el Laboratorio de Criobiología se sustituyó de forma progresiva el medio de cultivo por el citoprotector (dimetilsulfóxido) diluido en medio de cultivo celular RPMI, hasta una concentración final de 15% de DMSO, iniciando posteriormente la criopreservación en un congelador programable y a una velocidad de 1°C por minuto. Posteriormente, los especímenes fueron almacenados hasta su utilización, en fase de vapor de nitrógeno a -140°C. Cada arteria fue codificada con los datos del grupo ABO y Rh, longitud, diámetro, fecha de obtención y de criopreservación.

El tiempo medio de almacenaje de los injertos implantados fue de 110 días, con un mínimo de 14 y un máximo de 257 días.

Momentos antes de su implantación las arterias fueron descongeladas mediante un proceso rápido, sumergiéndolas en un baño de suero a 37°C.

Previamente a su implantación se obtuvo la preceptiva autorización de los pacientes a los que se les había explicado los pormenores del procedimiento, así como las alternativas terapéuticas existentes, de acuerdo con la legislación vigente.

Se constató la compatibilidad ABO y Rh entre el receptor y la arteria a implantar, no instaurándose tratamiento inmunosupresor en ninguno de los casos de la serie.

En todos los casos la indicación quirúrgica fue por

isquemia crítica, de acuerdo con los criterios del Consensus Europeo sobre Isquemia Crítica (2).

En 2 de los casos la implantación se hizo para sustituir injertos protésicos infrainguinales infectados, porque ya no disponían de Vena Safena útil y la indicación original fue isquemia crítica. Todos los pacientes, salvo 2, habían sido sometidos a diversas intervenciones de revascularización, con una media superior a 2 intervenciones previas por enfermo.

En el examen arteriográfico todos los pacientes presentaban un único tronco arterial como salida distal. La anastomosis distal del aloinjerto fue en todos los casos infragenicular y, excepto en 3 ocasiones, dicha anastomosis se efectuó en uno de los 3 troncos del tercio medio de la pierna o en arterias inframaleolares (Figs. 1a y 1b). Las diferentes variantes quirúrgicas están consignadas en la Tabla I.

Sistématicamente se practicó verificación arteriográfica digital peroperatoria, valorando la corrección de las anastomosis, el trayecto de todo el injerto, así como su salida distal.

El tiempo medio de seguimiento ha sido de 6,1 meses, oscilando entre 1 y 17 meses. Este se hizo cada 3 meses, valorando la clínica del paciente, las pruebas funcionales (índices y pleismografía), así como la Ecografía Doppler Color de alta definición. El Duplex-Color nos permitió estudiar la morfología de la pared del injerto, las curvas de flujo de velocidad a nivel de las anastomosis proximal y distal, así como el trayecto del injerto (Fig. 2).

No se realizaron biopsias de los injertos permeables, reservando esta posibilidad para los injertos que se ocluyeron durante el seguimiento.

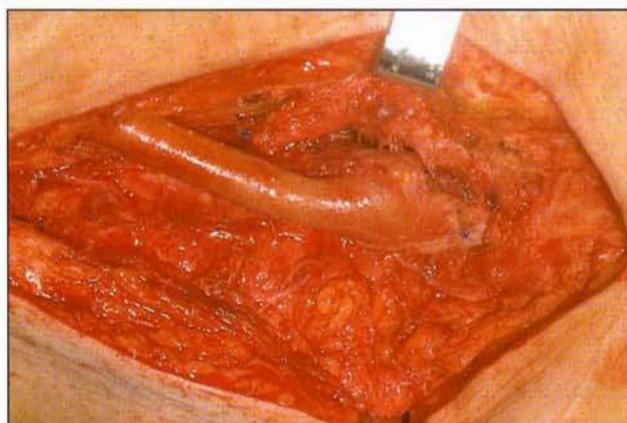


Fig. 1a. Detalle de la anastomosis proximal de un aloinjerto a nivel de la arteria femoral común.

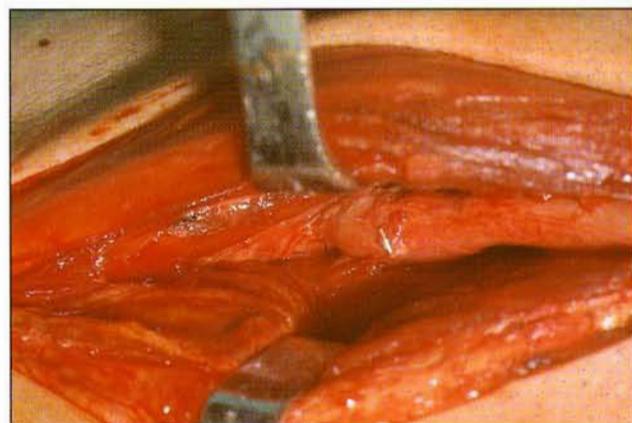


Fig. 1b. Anastomosis distal del injerto en la arteria tibial anterior distal.

Técnicas quirúrgicas	
Tipo de derivación	Pacientes
Ilio-poplíteo 3.a porción	3
Fémoro-tibial anterior	3
Fémoro-tibial post maleolar	2
Ilio-tronco tibioperoneo	1
Ilio-tibial posterior	1
Fémoro-pedio	1
Fémoro-peroneo	1

Tabla I

Resultados

El análisis de la Tabla de Vida demostró una permeabilidad inmediata del 91%, con una tasa de permeabilidad acumulada del 91% a los 1, 3, 6 y 9 meses, siendo del 45% a los 15 meses. La tasa de conservación de la extremidad fue del 66%, habiéndose tenido que practicar 4 amputaciones, 3 por oclusión del aloinjerto y otra por irreversibilidad de las lesiones isquémicas con el injerto permeable. El análisis de los datos mencionados viene reflejado en las Tablas II y III.

En los aloinjertos ocluidos se practicó estudio anatomo-patológico de la pieza de amputación. En un caso la biopsia se realizó meses después de la oclusión del bypass, apreciándose un infiltrado inflamatorio de la capa media constituido por linfocitos activados de inmunofenotipo T (marcadores UCHL1 y CD43 positivos) acompañado de necrosis fibrinoide de la elástica externa compatible con rechazo celular (Fig. 3).

No se han observado dilataciones ni roturas de los injertos en el seguimiento, evidenciándose un correcto comportamiento hemodinámico a nivel de las anastomosis, sin observarse aceleraciones de flujo que nos indujeran a pensar en una estenosis significativa. En 5 de los aloinjertos implantados se ha observado, mediante Duplex-Color, la presencia de un material homogéneo liso intraluminal en el cuerpo del injerto, alejado de las anastomosis, que no producía alteraciones hemodinámicas y que hemos atribuido al proceso de acomodación de calibres entre el injerto y la arteria receptora, que en la mayoría de los casos era de un diámetro muy inferior al del injerto (Fig. 4).

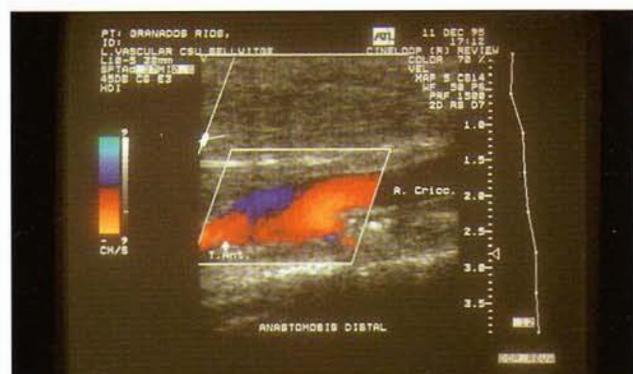


Fig. 2. Control postoperatorio Duplex: Anastomosis distal de aloinjerto sobre arteria tibial anterior.

En todos los injertos ocluidos de la serie hemos podido atribuir la causa de la misma a una progresión de la enfermedad en el lecho distal al by-pass. El único fracaso precoz, observado en una paciente en la que la indicación, probablemente incorrecta, fue por un cuadro de isquemia subaguda con trombosis venosa asociada de origen paraneoplásico. En el postoperatorio inmediato (4.º día) se produjo la oclusión del injerto, posiblemente por bloqueo del «run-off» debido a la trombosis venosa masiva coexistente. En los otros 2 casos ocluídos, a los 7 meses de la implantación, en el primero se pudo demostrar, mediante una biopsia del injerto, rechazo crónico, siendo finalmente el paciente amputado ante la ausencia de troncos distales pontables. El tercer caso, un by-pass fémoro-pedio, presentó un cuadro de isquemia aguda, realizándose una trombectomía del injerto que permitió comprobar la integridad del mismo y de las anastomosis, pero con progresión de la enfermedad arterial oclusiva en el lecho distal, lo cual indudablemente fue la causa de la reoclusión precoz ulterior y la pérdida de la extremidad.

Hubo un exitus por fallo multiorgánico después de una amputación correspondiente a la paciente mencionada con anterioridad con neoplasia ginecológica y metástasis múltiples.

Discusión

La idea de utilizar aloinjertos venosos o arteriales como procedimiento de revascularización arterial no es nueva. A partir de la década de los 60 se realizaron los primeros intentos con resultados desalentadores por problemas de rechazo, trombosis precoz o degenera-

Tabla de vida						
intervalo	en riesgo	ocluidos	duración	perdidos	I. permeab.	P. acumul.
0-1	12	1	0	0	0,91	100
1-3	11	0	2	1	1	91
3-6	8	0	2	0	1	91
6-9	6	2	2	0	0,50	91
9-12	2	0	0	0	1	45
12-15	2	0	1	0	1	45
15-18	1	0	0	0	1	45

Tabla II

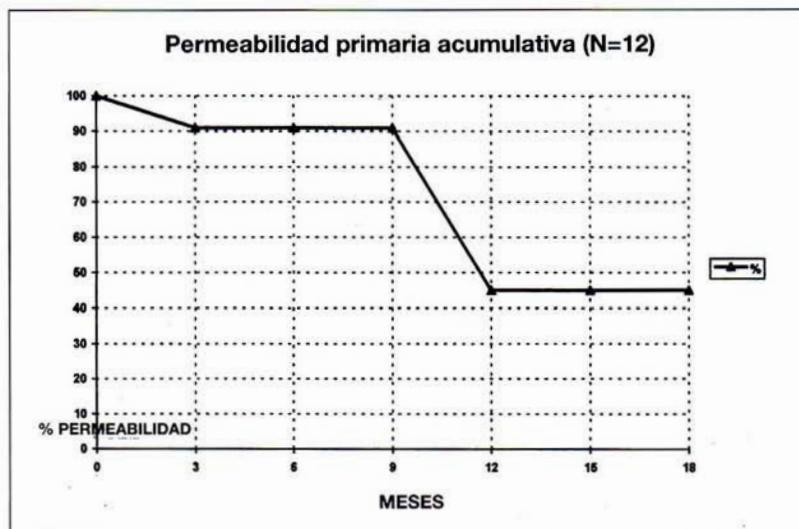


Tabla III



Fig. 3. Rechazo celular: Infiltrado inflamatorio que afecta la capa media de la arteria y que está constituido por linfocitos activados de inmunofenotipo T (UCHL1 y CD43 positivos) con necrosis fibrinoide de la elástica externa



Fig. 4. Control angiográfico peroperatorio: Anastomosis distal de aloinjerto sobre arteria tibial anterior maleolar.

ción en forma de calcificación, rupturas o dilataciones aneurismáticas, como consecuencia de técnicas de preservación deficientes (3, 4, 5).

A pesar de los avances y perfeccionamiento en el desarrollo de materiales sintéticos como sustitutos arteriales, éstas tienen aún el riesgo no despreciable de la infección y en especial su baja permeabilidad en la revascularización de troncos distales (6).

En la actualidad, la Vena Safena autóloga sigue siendo el material de elección para la revascularización infragenicular, con unas tasas de permeabilidad no igualadas por las prótesis u otros tipos de materiales (7).

Se han realizado intentos para mejorar los resultados tardíos de las prótesis sintéticas mediante técnicas aún experimentales, como el sembrado con células endoteliales (8) o empleando distintos tipos de prótesis biológicas (9), que tampoco han ofrecido resultados tardíos esperanzadores.

Por otro lado, la necesidad de realizar revascularización distal en pacientes de edad avanzada, a los que previamente se les ha practicado una fleboextracción, un by-pass coronario o que han tenido cirugías múltiples previas, condiciona que, a menudo, no podamos disponer de la Vena Safena por haber sido ya utilizada o simplemente porque es de mala calidad o de un calibre inadecuado. La utilización de la Vena Safena contralateral se puede plantear siempre y cuando aquella extremidad no sufra isquemia crónica, en cuyo caso la posibilidad de su utilización futura quedaría comprometida. La utilización de venas procedentes de otros sectores como la Safena Externa o venas de los miembros superiores es una alternativa en determinadas circunstancias, pero la longitud de los by-pass a realizar obliga a realizar injertos compuestos que tienen una baja permeabilidad (10).

Los avances de los últimos años en las técnicas de criopreservación y cultivo de tejidos, han permitido que distintos autores emplearan aloinjertos criopreservados venosos con resultados también poco satisfactorios (11, 12). En estas series, sin embargo, hay que tener en cuenta que los casos seleccionados correspondían a pacientes con múltiples intentos de revascularización previa, con un mal «run-off» y un grado de isquemia crítica, que no tenían prácticamente ninguna posibilidad quirúrgica, excepto la amputación de la extremidad.

Con la mejora y una mayor experiencia en los procesos de criopreservación y la utilización de citoprotectores, se ha observado que es posible conservar las características estructurales y hemodinámicas de las arterias. Por otro lado, la parcial destrucción de las células endoteliales de la arteria durante el proceso de criopreservación parece que puede atenuar el problema del rechazo agudo y la trombosis precoz, haciendo que la permeabilidad inicial postimplante pueda depender de un equilibrio entre el rechazo crónico y la neoendotelización a partir de las células del receptor (13), evitando la trombosis secundaria a la hiperplasia intimal que seguiría al denudamiento endotelial del vaso (14, 15).

Los aloinjertos arteriales criopreservados han sido empleados con resultados iniciales satisfactorios en los últimos años por los grupos franceses (16, 17).

Gournier publicó recientemente el seguimiento a medio plazo de 20 aloinjertos arteriales criopreservados, consiguiendo tasas de permeabilidad primaria a los 20 meses del 59% y de permeabilidad secundaria a los 30 meses del 70% en casos de revascularización por «limb salvage» (18).

En nuestra experiencia inicial, los resultados están siendo prometedores. Las tasas de permeabilidad, pese al corto período de seguimiento de la serie y el reducido número de casos, así como que se trata de enfermos con cirugías previas múltiples, parecen apuntar unos futuros mejores resultados en los dos casos de revascularización de troncos distales sin otra alternativa que no sea la amputación.

Conclusiones

Aunque es ampliamente aceptado que la Vena Safena autóloga sigue siendo el mejor material para las revascularizaciones distales, nuestra experiencia inicial sugiere que los aloinjertos criopreservados pueden ser una alternativa válida cuando no se dispone de aquélla. A pesar del escaso número de casos y el corto período de seguimiento de nuestra serie, creamos esperanzadora esta experiencia, aunque existan incógnitas que esclarecer, relacionadas con la metodología de la crioconservación y sus efectos sobre la estructura y biología de la pared vascular, así como del comportamiento del aloinjerto a medio y largo plazo.

BIBLIOGRAFIA

1. CAPDEVILA, J. M.: Trasplante veno-arterial homólogo. *Anales de Cirugía Vascular*, 1970; 219:173-204.
2. Second European Consensus Document on Chronic Critical Leg ischemia. *Eur. J. Vasc. Surg.*, 1992; 6(supplement A):1-32.
3. Oudot, J.: La greffe vasculaire dans les thromboses du carrefour aortique. *Press. Med.*, 1951; 59:234-236.
4. GROSS, R. E.; BILL, A. H.; PIERCE, E. C.: Methods for preservation and transplantation of arterial grafts. *Surg. Gyn. Obst.*, 1949; 88:689-695.
5. SZILAGYI, D. E.; RODRÍGUEZ, F. T.; SMITH, R. F.; ELLIO, J. P.: Late rate of arterial homografts: observations 6 to 15 years after implantation. *Arch. Surg.*, 1970; 101: 721-733.
6. QUIÑONES-BALDRICH, W. J.; PREGO, A. A.; UCELAY-GÓMEZ, R.; FREISCHLAG, J. A.; AHN, S. S.; BAKER, J. D.; et al.: Resultados a largo plazo de la revascularización infrainguinal con politetrafluoroetileno: 10 años de experiencia. *J. Vasc. Surg.*, 1992; 16:209-217.
7. VEITH, F. J.; GUPTA, S. K.; ASCER, E.; et al.: Six years multicenter randomized comparison of autologous saphenous vein and expanded polytetrafluoroethylene grafts in infrainguinal arterial reconstructions. *J. Vasc. Surg.*, 1986; 3:104-114.
8. ZILLA, P.; PREISS, P.; GROSCURTH, P.; RÖSEMEIER, F.; DEUTSCH, M.; ODELL, J.; et al.: In vitro-lined endothelium: Initial integrity and ultrastructural events. *Surgery*, 1994; 116(3):524-534.
9. DARDIK, H.; IBRAHIM, I. M.; SPRAYREGEN, S.; DARDIK, Y.: Clinical experience with modified umbilical cord vein for arterial by-pass. *Surgery*, 1976; 79:618-622.
10. LONDREY, G. L.; BOSHER, L. P.; BROWN, P. V.; STONEBURNER, F. D.; PANCOAST, J. W.; DAVIS, R. K.: Infringuinal reconstruction with arm vein, lesser saphenous vein and remnants of greater saphenous vein: A report of 257 cases. *J. Vasc. Surg.*, 1994; 20:451-457.
11. WALKER, P. J.; MITCHELL, R. S.; MCFADDEN, P. M.; JAMES, Dr.; MEHIHGAN, J. T.: Early experience with cryopreserved saphenous vein allografts as a conduit for complex limb-salvage procedures. *J. Vasc. Surg.*, 1993; 18(4):561-569.
12. HARRIS, R. W. K.; SCHNEIDER, P. A.; ANDROS, G.; OBLATH, R. W.; SALLES-CUNHA, S.; DULAWA, L.: Allograft vein by-pass: is it an acceptable alternative for infrapopliteal revascularization? *J. Vasc. Surg.*, 1993; 18(3):553-560.
13. GOURNIER, J. P.; ABSY, L.; BANCEL, B.; FAVRE, J. P.; BARRAL, X.: Histological, PCR & Immunological study of cryopreserved arteria allografts in human. XI Latin Meeting on Vascular Research. Alcalá de Henares, Madrid. Noviembre, 1995.
14. GOURNIER, J. P.; ADHAM, M.; FAVRE, J. P.; RABA, M.; BANCEL, B.; LEPEITT, J. C.; BARRAL, X.: Cryopreserved arterial homografts: Preliminary study. *Ann. Vasc. Surg.*, 1993; 7:503-511.
15. GALUMBECK, M. A.; SANFILIPPO, F. P.; HAGEN, P. O.; SEABER, A.; URBANIAK, J. R.: Inhibition of vessel allograft rejection by endothelial removal: morphologic and structural changes. *Ann. Surg.*, 1987; 206(6):757-764.
16. ROSSET, E.; GOURNIER, J. P.; MAGNE, J. L.; FAVRE, J. P.; MAGNAN, P. E.; MATHIEU, J. P.; BRANCHEREAU, A.; GUDICIETTI, H.; BARRAL, X.: Homoinjertos arteriales en la isquemia crítica de las extremidades inferiores: estudio multicéntrico. IV Convención de Cirujanos Vasculares de Habla Hispana. Estoril, Lisboa. Octubre, 1994.
17. KIEFFER, E.; BAHNINI, F.; KOSKAS, C.; RUOTOLI, D.; LE BLEVER, D.; PLISSONIER, D.: In situ allograft replace-

ment of infrarenal aortic grafts: results in 43 patients. *J. Vasc. Surg.*, 1993; 17:349-356.

18. GOURNIER, J. P.; FAVRE, J. P.; GAY, J. L.; BARRAL, X.:

Cryopreserved arterial allograft for limb salvage in the absence of suitable saphenous vein: Two years results in 20 cases. *Ann. Vasc. Surg.*, 1995; 9(Suppl): S7-.