

Cambios histopatológicos en arterias humanas sometidas a procesos de isquemia fría y criopreservación

A. Veiga-Barreiro^a, M.E. Rendal-Vázquez^b, G. Matheu-Capó^a,
 C. Andión-Núñez^b, J. Sánchez-Ibáñez^c, R.J. Segura-Iglesias^d,
 P. Filgueira-Fernández^e, S. Pérez-Díaz^f, M. Rodríguez-Cabarcos^b,
 R.O. Fernández-Mallo^b, T. Bermúdez-González^b,
 V. Fiaño-López^a, M. Vázquez-Blanco^a, E. Vázquez-Martul^a

HISTOPATHOLOGICAL CHANGES IN HUMAN ARTERIES FOLLOWING COLD ISCHEMIA AND CRYOPRESERVATION PROCESSES

Summary. Introduction. The growing demand for vascular grafts has given rise to a continuous search for the 'ideal' method of minimising vascular damage during the process of preservation. Aims. Our objective was to study how the different phases of the process of tissue preservation affect the histology of arteries. Patients and methods. We analysed 86 segments of (iliac and superficial femoral) arteries from 50 donors. Three samples in different phases of the process were obtained from each segment and a similar number of study groups were also set up involving arteries that were either fresh, post-cold ischemic or post-cryopreserved. The maximum cold ischemia time was 20 hours and samples were kept in an antibiotic solution at 4 °C. Cryopreservation was performed in a solution with dimethylsulphoxide (DMSO) with a programmed drop in temperature of 1 °C/min with gas phase storage (-150 °C to -190 °C). A number of parameters were evaluated including endothelium preservation, the intensity of the degenerative changes (myxoid degeneration, apoptosis) that take place in the wall of the artery and the presence of fractures; the results from the different groups were then compared. We also studied the reasons that caused some of the grafts to fail. Results. Results showed that 81.4% of the cryopreserved arteries had suffered almost complete loss of the endothelium (3.5% in the other two groups) and more than 50% presented important degenerative changes in the wall compared to 3.5 and 8.1% in groups 1 and 2. Conclusions. The cryopreservation process brings about an important loss of endothelium and degenerative changes in the wall of the artery. The cold ischemia time employed in our study had no effect on the arterial structure. [ANGIOLOGÍA 2004; 56: 97-105]

Key words. Allograft. Artery. Cryopreservation. Degeneration. Endothelial damage. Viability.

^a Servicio de Anatomía Patológica. ^b Unidad de Criobiología. ^c Oficina de Coordinación de Trasplantes. ^d Departamento de Cirugía Vascular. ^e Unidad de Investigación. ^f Departamento de Estadística. Complejo Hospitalario Juan Canalejo. A Coruña, España.

Correspondencia:

Dr. Jesús Alberto Veiga Barreiro. Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Juan Canalejo. As Xubias, 84. E-15006 A Coruña. E-mail: veigabarreiro@canalejo.org

© 2004, ANGIOLOGÍA

Introducción

Desde principios del siglo XX hasta el día de hoy, la sustitución arterial ha sido uno de los grandes problemas de la ciru-

gía reconstructiva. El uso de injertos arteriales o venosos en la reconstrucción vascular se describió por primera vez en 1951. A pesar de unos prometedores comienzos, su uso se abandonó durante

años por la aparición de fenómenos de rechazo y la dificultad para encontrar un método de conservación adecuado, circunstancias que conducían a un importante deterioro de los implantes y la pérdida final del injerto [1].

El desarrollo y la aparición de materiales sintéticos solventó en parte el problema del rechazo tisular a costa de una alta incidencia de implantes fallidos (trombosis, proliferación miointimal), por lo que el hecho de encontrar un método de preservación válido para los aloinjertos se convirtió en una necesidad acuciante [2-3].

La introducción de técnicas como la criopreservación ha supuesto un importante avance en el campo de la reconstrucción vascular. Tras los malos resultados iniciales [4], las investigaciones se encaminaron hacia la búsqueda de una técnica ideal para minimizar los daños vasculares durante el proceso de conservación; se consiguieron importantes logros en la obtención de soluciones crioprotectoras [5-6], y en los métodos de congelación y de almacenamiento, hechos que propulsaron la creación de numerosos bancos de vasos.

La demanda de injertos vasculares es cada día mayor, con lo que el uso de vasos procedentes de estos bancos se incrementa día a día a pesar de la baja rentabilidad funcional en muchos de los casos. Numerosos autores han propuesto como posibles factores responsables del daño vascular el proceso de congelación, la temperatura de almacenamiento y la velocidad de descongelación [7].

La técnica de congelación aceptada como idónea es la disminución progre-

siva de la temperatura de 1 °C/min. La conservación de los segmentos arteriales mejora a temperaturas próximas a los -80 °C, aunque la necesidad de un almacenamiento prolongado en el tiempo hace que ésta se lleve a cabo a temperaturas más bajas.

La criopreservación, por tanto, desempeña ya un importante papel en el almacenamiento de tejidos y cobrará mayor importancia cuando la ingeniería de tejidos sea una realidad de todos los días [8].

Por este motivo hemos realizado un estudio histológico comparativo semi-quantitativo utilizando estudios de microscopía óptica. La finalidad es conocer los cambios histopatológicos que se producen en la estructura arterial durante el proceso anterior a su implantación en el receptor, valorando el posible efecto que se produce por el tiempo de isquemia fría y por la criopreservación, en comparación con un grupo control constituido por muestras de segmentos arteriales 'frescos' procesados inmediatamente tras la extracción del donante.

Como objetivo secundario hemos analizado las causas del fracaso del injerto en los casos en los que éste se produjo y su posible relación con los cambios histopatológicos antes del implante.

Pacientes y métodos

Hemos estudiado 86 segmentos arteriales (ilíaca y femoral superficial) procedentes de 50 donantes multiorgánicos con diferentes edades, sexos y causa de muerte.

Diseño del estudio

De cada uno de los segmentos arteriales se tomó una muestra de aproximadamente 1 cm de longitud en tres momentos distintos; por tanto, se obtuvieron tres muestras de cada segmento arterial que se distribuyeron en tres grupos de estudio:

- *Grupo 1.* Arterias frescas. Muestras tomadas de cada segmento arterial inmediatamente tras su obtención desde el donante (grupo control); el resto del tejido se incubó en medio antibiótico.
- *Grupo 2.* Arterias postisquemia fría. Muestras tomadas de cada segmento arterial tras el proceso de incubación antibiótica (efecto isquemia fría); el resto del tejido se congeló.
- *Grupo 3.* Arterias poscriopreservación. Muestras tomadas de cada segmento arterial tras la descongelación del material criopreservado (efecto criopreservación).

Incubación antibiótica y criopreservación

Tras la extracción quirúrgica y una vez tomadas las muestras de cada segmento para constituir el grupo control, el resto del tejido se colocó inmediatamente en una solución de RPMI, pH = 7,4. Se realizó una incubación en solución antibiótica (5 µg/mL de anfotericina B, 50 µg/mL de metronidazol, 50 µg/mL de vancomicina y 50 µg/mL de amikacina) durante 6-20 horas, a 4 °C. Despues de la incubación antibiótica, se colocaron las muestras en una bolsa GAMBRO DF 700 que contiene una solución de dimetil sulfóxido (DMSO) al 10% en medio RPMI, la cual

se equilibró durante 30 minutos a 4 °C antes de la criopreservación. El crioprotector se introdujo mediante inmersión de los segmentos arteriales durante 1 minuto en baños sucesivos de DMSO diluido (8%, 6%, 4%, 2%, NaCl 0,9%) a 4° C.

La criopreservación se llevó a cabo en el congelador biológico (CM25 Carburos Metálicos S.A., Madrid, España), con un descenso programado de 1 °C/min hasta -40 °C e índices más rápidos de aquí en adelante hasta -150 °C y almacenamiento en fase gas del nitrógeno líquido durante seis meses.

Transcurrido este tiempo, las arterias se descongelaron de forma lenta y secuencial; se colocó la bolsa con el segmento vascular durante 10 minutos a -80 °C, seis minutos a temperatura ambiente y durante cuatro minutos a 40 °C a una velocidad media de descongelación de 15 °C/min.

Para minimizar el daño celular debido al choque osmótico, el crioprotector se retiró en lavados secuenciales con dilución progresiva a 4 °C en solución salina (NaCl 0,9%)

Estudios morfológicos

Todas las muestras se fijaron por inmersión en formaldehído al 4%; posteriormente se incluyó en bloque de parafina y se realizaron secciones de 4 micras de grosor. Tras el proceso de desparafinado e hidratación se realizaron tinciones de hematoxilina-eosina, tricrómico de Masson, orceína y azul alcián.

En el estudio histológico se utilizó un microscopio óptico Olympus BX50 mediante un método semicuantitativo para valorar los siguientes parámetros:

- Preservación del endotelio vascular:
 $< 10\% / 10-25\% / 25-50\% / > 50\%$
de la circunferencia arterial.
- Degeneración mixoide: 0 / + / ++ / +++.
- Cambios sugestivos de apoptosis celular (degeneración eosinófila de los citoplasmas de las fibras musculares y presencia de núcleos picnóticos): 0 / + / ++ / +++.
- Presencia de fracturas en la pared de los vasos atribuibles al proceso de descongelación: sí / no.

En todos aquellos casos en los que se realizó exéresis del injerto por disfunción de éste, se estudiaron las causas y las alteraciones histopatológicas que presentaba.

Resultados

Tanto en el grupo 1 como en el 2, no se observaron alteraciones significativas en la estructura de la pared arterial (Tabla, Fig. 1). En cada uno de estos grupos sólo tres arterias (3,5%) mostraron una pérdida prácticamente total del endotelio vascular. En el tercer grupo, 70 de las 86 arterias que se estudiaron (81,4%) mostraron pérdida de células endoteliales en más del 90% de la circunferencia arterial (Tabla, Fig. 2).

Hemos observado cambios de degeneración mixoide intensos (++) en un 3,5% y un 8,1% de las muestras de los grupos 1 y 2. El porcentaje en el grupo de las arterias criopreservadas se elevó hasta el 52,3%. Igualmente un gran número de segmentos correspondientes

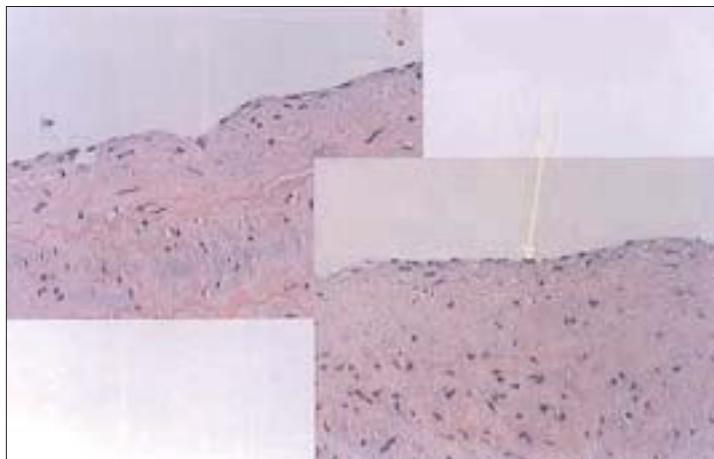


Figura 1. Presencia de células endoteliales. Endotelio > 50% (hematoxilina-eosina 200x).

Tabla. Resultados del estudio anatomico-patológico. Número de casos en cada grupo según las características y la intensidad de los cambios histopatológicos.

		Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Presencia de células endoteliales	> 50%	63	57	0
	50-25%	14	17	8
	25-10%	6	9	8
	< 10%	3	3	70
Degeneración mixoide	0	35	32	0
	(+)	32	35	9
	(++)	16	12	32
	(+++)	3	7	45
Grado de apoptosis	(+)	41	40	11
	(++)	33	34	27
	(+++)	12	12	46

a los dos primeros grupos (40,7% y 37,1%) no presentaban ningún cambio degenerativo (Tabla, Fig. 3). En el grupo 3 no se observaron arterias sin este tipo de alteraciones (Tabla, Fig. 4).

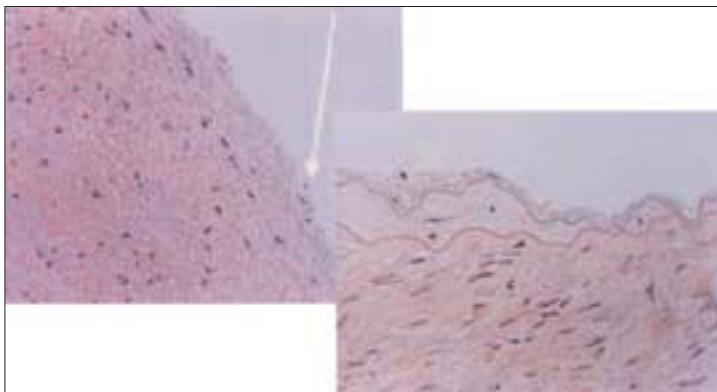


Figura 2. Presencia de células endoteliales. Endotelio < 10% (hematoxilina-eosina 200x).



Figura 3. Degeneración mixoide (0/+) (azul alcián 200x).



Figura 4. Degeneración mixoide (++/++) (azul alcián 200x).

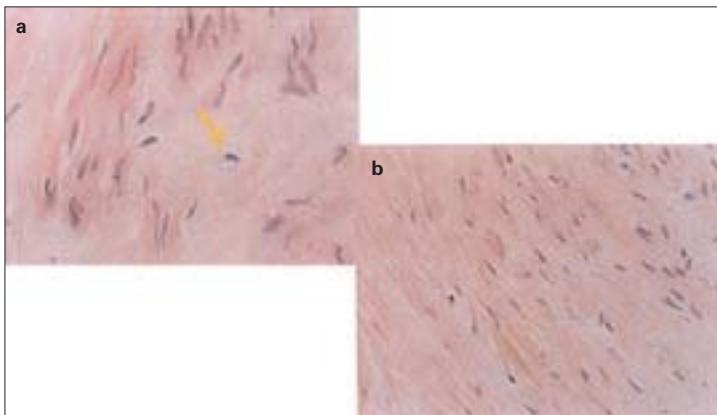


Figura 5. Apoptosis: a) Azul alcián 400x; b) Hematoxilina-eosina 200x)

En los tres grupos se observaron arterias con mayor o menor grado de cambios apoptóticos en las células musculares (Tabla, Fig. 5). En las arterias criopreservadas el número de células degeneradas estaba muy incrementado en 46 de las 86 arterias (53,5%), frente al 13,9% de los grupos 1 y 2.

Seis arterias criopreservadas mostraron fracturas longitudinales en la lámina elástica interna con separación de la íntima (Fig. 6).

En los casos en los que se realizó exéresis del injerto por disfunción de éste, la causa más frecuente de fallo fue la trombosis vascular sobre enfermedad ateromatosa *de novo* (tres casos), en segmentos con masiva denudación endotelial preimplante (Fig. 7). En estos segmentos la pared arterial mostró un engrosamiento irregular, asimétrico, con placas ateromatosas complicadas con trombos de fibrina organizados, sin el clásico engrosamiento concéntrico de la vasculopatía del trasplante. Otros dos casos presentaban una rotura longitudinal de la pared asociada a cambios mixoides preimplante, y por último, observamos un caso con necrosis del vaso por infección por *Aspergillus* un mes después del implante.

Discusión

La ausencia de alteraciones histopatológicas significativas debidas al tiempo de

isquemia fría nos hace pensar que un tiempo como el que empleamos en el estudio minimiza e incluso elimina este factor como responsable de daños vasculares graves, como los que se describen en estudios experimentales que emplean tiempos más prolongados [9].

La llamativa pérdida de la integridad endotelial que se observó en las arterias criopreservadas hace suponer que tanto la temperatura de almacenamiento como el proceso de descongelación pueden desempeñar un importante papel causa-efecto. En la literatura existe disparidad de criterios en cuanto a la viabilidad del endotelio tras la criopreservación. Para Muller-Schweinitzer et al [10] la temperatura y el almacenamiento son responsables de al menos el 50% de la denudación endotelial. Bujan et al [11] y Pascual et al [7] matizan esta afirmación con estudios sobre arterias analizadas con microscopía electrónica de barrido, en los que observaron que la denudación se produce en áreas irregulares con dos tipos de comportamiento, denudación en láminas o de manera individual, hecho que podría explicar en gran parte la disparidad de resultados en los distintos estudios.

Las alteraciones que hemos observado en la capa media son igualmente significativas, con importantes cambios degenerativos tanto en las propias células musculares lisas como en la matriz extracelular. El porcentaje de células con eosinofilia citoplasmática y picnosis nuclear es mucho mayor en las arterias criopreservadas respecto a los otros dos grupos. Esto difiere de los resultados que obtuvieron Nataf et al [12] y Rigol



Figura 6. Fracturas de paredes vasculares (hematoxilina-eosina 200×).

et al [13] y está más en consonancia con estudios como los de Rosset [14] y Pascual et al [7,15]. En este último estudio, complementado con técnica de TUNEL (*terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick and labelling*) para valorar el grado de apoptosis, el daño celular y estructural fue mucho mayor en aquellas arterias que se habían sometido a un proceso de descongelación rápido frente a los segmentos descongelados más lentamente.

La mayor parte de los autores consideran inexistentes los cambios en la matriz extracelular [16], mientras que otros los minimizan observando únicamente

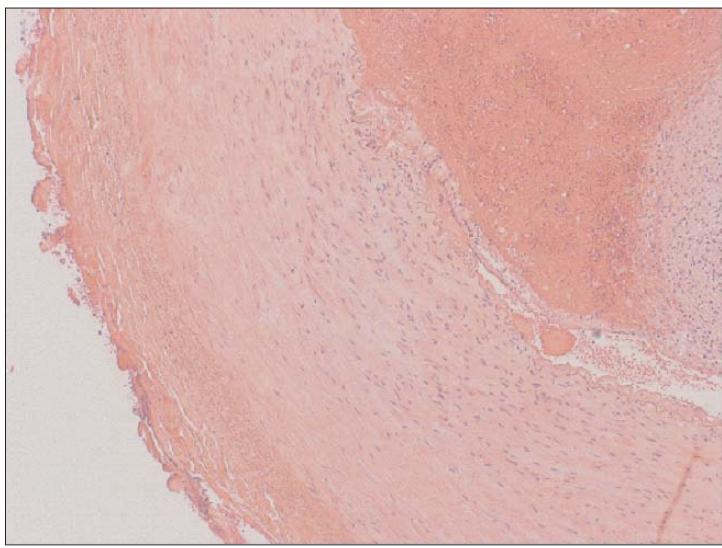


Figura 7. Hallazgos en injertos fallidos. Trombosis arterial (hematoxilina-eosina 200x).

leves variaciones atribuibles a la criopreservación. Al contrario de lo apuntado en estudios realizados en condiciones similares al nuestro, hemos observado importantes cambios a este nivel con importantes acúmulos de mucopolisacáridos en el 52,3% de nuestras arterias criopreservadas.

Sin embargo, no se han observado fracturas arteriales atribuibles al estrés mecánico y la formación de hielo durante el proceso de descongelación [8,17-18]. Estas fracturas se producen, característicamente, de forma perpendicular a la longitud del vaso. Seis de nuestras arterias presentaron fracturas longitudinales en la lámina elástica interna con separación de la íntima, hecho que podría ser el reflejo de artefactos durante el proceso de fijación, inclusión o corte del material.

En el período precongelación, además del tiempo de isquemia fría como posible inductor de daño arterial, está

bien documentado el efecto tóxico de algunos antibióticos sobre el endotelio vascular, especialmente la anfotericina B [19-21]. Este hecho podría plantear la necesidad de crear un grupo adicional en nuestro estudio, con la finalidad de analizar por separado las alteraciones atribuibles a dicho efecto. Sin embargo, basándonos en nuestra experiencia, en estudios realizados en condiciones idénticas al actual, con el objetivo de conocer el posible efecto nocivo de la solución antibiótica que se utilizó (anfotericina B, metronidazol, vancomicina y amikacina) y de el DMSO, estableciendo distintos grupos de estudio, con y sin antibiótico y DMSO, con distintos períodos de incubación (1-24 horas), no hemos observado diferencias intergrupales en cuanto a denudación endotelial, contractilidad o relajación de las arterias, por lo que no hemos considerado este punto a la hora de diseñar nuestro estudio.

Es evidente que la edad, el sexo, la causa de muerte e incluso la procedencia de los segmentos arteriales modifican por sí mismos la arquitectura arterial y que, potencialmente, alteran la viabilidad del injerto. Sin embargo, el hecho de que cada una de las muestras sometidas a tiempo de isquemia fría y congelación tenga su representación en el grupo control, asegura que los cambios histopatológicos que se observaron son atribuibles a los distintos procesos, excluyendo cualquier posibilidad de sesgo.

En conclusión, la criopreservación está asociada a una importante pérdida de la integridad del endotelio y a cambios degenerativos en la pared arterial que

potencialmente pueden conducir a la disminución de la viabilidad de los injertos.

El tiempo de isquemia fría empleado, con una adecuada incubación antibiótica, no provoca alteraciones significativas

en la pared arterial en cuanto a los parámetros histológicos que se estudiaron.

Un proceso de descongelación lento y secuencial disminuye sensiblemente el riesgo de producción de fracturas arteriales.

Bibliografía

1. Gournier JP, Adham M, Favre JP, Raba M, Bancel B, Lepetit JC, et al. Cryopreserved arterial homografts: preliminary study. *Ann Vasc Surg* 1993; 7: 503-11.
2. Faggioli G, Ricotta JJ. Cryopreserved vein homografts for arterial reconstruction. *Eur J Vasc Surg* 1994; 8: 661-9.
3. Martin RS 3rd, Edwards WH, Mulherin JL Jr, Edwards WH Jr, Jenkins JM, Hoff SJ. Cryopreserved saphenous vein allografts for below-knee lower extremity revascularization. *Ann Surg* 1994; 219: 664-70.
4. Ochsner JL, Lawson JD, Eskind SJ, Mills NL, DeCamp PT. Homologous veins as an arterial substitute: long term results. *J Vasc Surg* 1984; 1: 306-13.
5. Shah RM, Faggioli GL, Mangione S, Harris LM, Kane J, Taheri SA, et al. Early results with cryopreserved saphenous vein allografts for infrainguinal bypass. *J Vasc Surg* 1993; 18: 965-71.
6. Muller-Schweinitzer E. Arterial smooth muscle function after prolonged exposure to a medium containing dimethyl sulfoxide (Me₂SO) and storage at -196 degrees C. *Cryobiology* 1994; 31: 330-5.
7. Pascual G, García-Hondurilla N, Rodríguez M, Turegano F, Bujan J, Bellón JM. Effect of the thawing process on cryopreserved arteries. *Ann Vasc Surg* 2001; 15: 619-27.
8. Pegg DE. The current status of tissue cryopreservation. *Cryo Letters* 2001; 22: 105-14.
9. Pascual G, Jurado F, Rodríguez M, Corrales C, López-Hervás P, Bellón JM, et al. The use of ischaemic vessels as prostheses or tissue engineering scaffolds after cryopreservation. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2002; 24: 23-30.
10. Muller-Schweinitzer E, Mihatsch MJ, Schilling M, Haefeli WE. Functional recovery of human mesenteric and coronary arteries after cryopreservation at -196 degrees C in a serum-free medium. *J Vasc Surg* 1997; 25: 743-50.
11. Bujan J, Pascual G, García-Hondurilla N, Gimeno MJ, Jurado F, Carrera-San Martín A, et al. Rapid thawing increases the fragility of the cryopreserved arterial wall. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2000; 20: 13-20.
12. Nataf P, Guettier C, Bourbon A, Nappi F, Lima L, Dorent R, et al. Influence of arterial allograft preparation techniques on chronic vascular rejection: a histological study. *Transplant Proc* 1996; 28: 2890-2.
13. Rigol M, Heras M, Martínez A, Zurbano MJ, Agustí E, Roig E, et al. Changes in the cooling rate and medium improve the vascular function in cryopreserved porcine femoral arteries. *J Vasc Surg* 2000; 3: 1018-25.
14. Rosset E, Friggi A, Rico R. Mechanical properties of the arteries. Effects of cryopreservation. *Chirurgie* 1996; 121: 285-97.
15. Pascual G, García-Hondurilla N, Gimeno MJ, Jurado F, Turégano F, Bellón JM, et al. El proceso de descongelación lenta mantiene la viabilidad de la pared arterial criopreservada. *Angiología* 2000; 1, 25-32.
16. Schoeffter P, Muller-Schweinitzer E. The preservation of functional activity of smooth muscle and endothelium in pig coronary arteries after storage at -190 degrees C. *J Pharm Pharmacol* 1990; 42: 646-51.
17. Pegg DE, Wusteman MC, Boylan S. Fractures in cryopreserved elastic arteries. *Cryobiology* 1997; 34: 183-92.
18. Hunt CJ, Song YC, Bateson EA, Pegg DE. Fractures in cryopreserved arteries. *Cryobiology* 1994; 3: 506-15.
19. Cutaia M, Bullard SR, Rudio K, Rounds S. Characteristics of amphotericin B-induced endothelial cell injury. *J Lab Clin Med* 1993; 121: 244-56.
20. Feng XJ, Van Hove CE, Mohan R, Walter PJ, Herman AG. Effects of different antibiotics on the endothelium of the porcine aortic valve. *J Heart Valve Dis* 1993; 2: 694-704.
21. Schmehl MK, Bank HL, Brockbank KG. Effects of antibiotics on the endothelium of fresh and cryopreserved canine saphenous veins. *Cryobiology* 1993; 30: 164-71.

**CAMBIOS HISTOPATOLÓGICOS
EN ARTERIAS HUMANAS SOMETIDAS
A PROCESOS DE ISQUEMIA FRÍA
Y CRIOPRESERVACIÓN**

Resumen. Introducción. La creciente demanda de injertos vasculares ha provocado una búsqueda continua del método ‘ideal’ para minimizar los daños vasculares durante el proceso de conservación. Objetivo. Estudiar la repercusión sobre la histología arterial del proceso de preservación del tejido en sus distintas fases. Pacientes y métodos. Hemos analizado 86 segmentos arteriales (ilíaca y femoral superficial) procedentes de 50 donantes. De cada segmento se obtuvieron tres muestras en distintas fases del proceso, y se establecieron otros tantos grupos de estudio: arterias frescas, postisquemia fría y poscriopreservación. El tiempo máximo de isquemia fría fue de 20 horas y las muestras se mantuvieron en solución antibiótica a 4 °C. La criopreservación se realizó en una solución con dimetil sulfóxido (DMSO) con descenso térmico programado de 1 °C/min con almacenamiento en fase gas (-150 °C a -190 °C). Se valoraron parámetros como la preservación del endotelio, la intensidad de cambios degenerativos (degeneración mixoide, apoptosis) en la pared arterial y la presencia de fracturas, comparando los resultados entre los distintos grupos. Se estudiaron igualmente las causas que llevaron al fracaso de algunos injertos. Resultados. El 81,4% de las arterias criopreservadas mostró una pérdida prácticamente total del endotelio (3,5% en los otros dos grupos) y más del 50%, importantes cambios degenerativos en su pared frente al 3,5 y 8,1% de los grupos 1 y 2. Conclusiones. El proceso de criopreservación provoca una importante pérdida endotelial y cambios degenerativos en la pared arterial. El tiempo de isquemia fría que se empleó en nuestro estudio no tiene repercusión en la estructura arterial. [ANGIOLOGÍA 2004; 56: 97-105]

Palabras clave. Aloinjerto. Arteria. Criopreservación. Daño endotelial. Degeneración. Viabilidad.

**ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS
NAS ARTÉRIAS HUMANAS SUBMETIDAS
A PROCESSOS DE ISQUEMIA FRIA
E CRIOPRESERVAÇÃO**

Resumo. Introdução. A crescente necessidade de enxertos vasculares provocou uma busca contínua do método ‘ideal’ para minimizar as lesões vasculares durante o processo de conservação. Objectivo. Estudar a repercussão do processo de preservação do tecido nas suas fases distintas, sobre a histologia arterial. Doentes e métodos. Analisámos 86 segmentos arteriais (ilíaca e femoral superficial) procedentes de 50 dadores. De cada segmento obtiveram-se três amostras em distintas fases do processo, e estabeleceram-se outros tantos grupos de estudo: artérias frescas, pós-isquemia fria e pós-criopreservação. O tempo máximo de isquemia fria foi de 20 horas e as amostras foram mantidas em solução antibiótica a 4 °C. A criopreservação realizou-se numa solução de dimetilsulfóxido (DMSO) com descida térmica programada de 1 °C/min, com armazenamento em fase gasosa (-150 °C a -190 °C). Avaliaram-se os parâmetros como a preservação do endotélio, a intensidade de alterações degenerativas (degeneração mixóide, apoptose) na parede arterial e a presença de fracturas, comparando os resultados entre os grupos distintos. Foram igualmente estudadas as causas que levaram ao fracasso de alguns enxertos. Resultados. 81,4% das artérias criopreservadas mostraram uma perda praticamente total do endotélio (3,5% nos outros dois grupos) e mais de 50% de alterações degenerativas importantes na sua parede versus 3,5 e 8,1% dos grupos 1 e 2. Conclusões. O processo de criopreservação provoca uma perda endotelial importante e alterações degenerativas na parede arterial. O tempo de isquemia fria que se utilizou no nosso estudo não tem repercussão sobre a estrutura arterial. [ANGIOLOGÍA 2004; 56: 97-105]

Palavras chave. Aloenxerto. Artéria. Criopreservação. Degeneração. Lesão endotelial. Viabilidade.