

Un sistema anticalcificante. Opción contra la calcificación de las bioprótesis

Alejandro Juárez-Hernández, Felipe A. Masso-Rojas

Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez". Ciudad de México, MÉXICO.

Las bioprótesis cardiacas son en la actualidad la mejor opción para sustituir una válvula cardiaca enferma. Desde hace varios años se sabe que el principal problema de las bioprótesis es la calcificación ("mineralización"). Por tanto, en nuestra institución, donde se tiene ya experiencia de 35 años en la elaboración de bioprótesis, se investigó y desarrolló un sistema para tratar de proteger nuestras bioprótesis de este problema. Nuestras prótesis originalmente se hicieron con duramadre y posteriormente con pericardio bovino preservadas con glutaraldehído, solución que prepara bien al tejido biológico, pero que tiene el inconveniente de atraer calcio. El sistema propuesto y probado fue el de agregar un aminoácido sencillo, glicina, al tratamiento general. Este tratamiento impide la adhesión de calcio al tejido biológico, permitiéndole un tiempo de vida funcional más prolongado que con el tratamiento convencional. A partir de estudios *in vitro* e *in vivo* muy satisfactorios, se pasó a la etapa clínica, en donde hasta el momento se han implantado 1362 prótesis en todas las posiciones con excelentes resultados a 10 años.

Palabras clave: Duramadre; Pericardio bovino; Glutaraldehído; Glicina; Tratamiento anticalcificante.

Bioprosthetic heart valves are currently the best option for replacing a damaged heart valve. It has been known for several years that calcification ("mineralization") represents the main drawback of bioprosthesis. Accordingly, to address this issue, our institution –over 35-year experience in bioprosthesis production– performed research and developed an anticalcification system for bioprosthesis. Our bioprostheses were initially made of duramater and, afterwards, of bovine pericardium. The later was treated for preservation with glutaraldehyde, a solution that optimally prepares the biological tissue; however, it attracts calcium. The proposed and tested system consists of adding glycine, a simple amino acid, to the general treatment. This treatment prevents calcium from adhering to the biological tissue, which results in a longer functional lifetime than that achieved with traditional treatment. Following satisfactory *in vitro* and *in vivo* studies, we proceeded to the clinical phase with 1362 prostheses successfully implanted so far in all positions within a 10-year period.

Key words: Duramater; Bovine pericardium; Glutaraldehyde; Glycine; Anticalcification treatment.

(*Cir Card Mex* 2019; 4(1): 1-7)

© 2019 por la Sociedad Mexicana de Cirugía Cardiaca, A.C.



El uso de prótesis cardiacas en términos generales es relativamente nuevo, si se le compara con otro tipo de cirugías. Asimismo es para las bioprótesis. Desde década de los 70s [1,2], ante los múltiples problemas de las prótesis mecánicas, los homoinjertos fueron una posibilidad en el tratamiento de algunas valvulopatías.

Sin embargo, con el devenir del tiempo, las bioprótesis han mostrado cualidades muy superiores desde el punto de vista hemodinámico a las mecánicas. Estas tienen una serie de inconvenientes que nunca han podido ser paliados y que se refieren a que al no funcionar con un flujo de salida único y central, provocan estrés cortante exagerado ("turbulencia") [3-7], que finalmente se traduce en formación de trombos

[8,9], que a veces obstruyen la movilización de los discos y en ocasiones migran al convertirse en coágulos que pueden ir a cualquier sitio y causar obstrucciones y por tanto necrosis de tejidos que se queden sin circulación. Por otro lado, la anticoagulación puede llevar al efecto contrario, hemorragias en cualquier parte del cuerpo [10-12]. Estos problemas pueden ser en ocasiones "pequeños", como los que denominan strands ("hebras") [13-16], fenómeno que consiste en la formación de "hilos o hebras" de trombos que se convierten en émbolos y pueden llegar al cerebro, pues se ha demostrado que no es indispensable un gran coágulo para dar problemas cerebrales. Para tratar de evitar este problema tan grave, se ha utilizado la anticoagulación de por vida. En nuestro medio, este es un serio inconveniente. No todos los pacientes que reciben este tipo de prótesis tienen la capacidad económica y de conocimientos como para ser disciplinados en su uso. Algunos que viven en lugares lejanos de servicios médicos de control de los anticoagulantes o de farmacias para adquirirlos, frecuen-

temente hacen un mal seguimiento de dichos anticoagulantes provocando efectos catastróficos. Además, esas prótesis que en su inicio se reputaban como “eternas”, han mostrado grandes debilidades en su estructura y funcionamiento, pues además de lo relatado antes, sus discos no se abren y cierran simultáneamente, sino que muchas veces se mueven en momentos distintos, aumentando el grado de “turbulencia” y por tanto la posibilidad de trombosis. Quizá la mayor posibilidad de trombosis de este tipo de prótesis sea debido a que al contrario de las válvulas cardíacas normales, las mecánicas no tienen un solo canal de flujo, sino que tienen varios y esto es favorecedor de la turbulencia. Por si fuera poco, sufren un deterioro estructural llamado “cavitación” [17-20], donde el recubrimiento de los discos se lastima, dejando en ese sitio una irregularidad que a su vez es el foco de adhesión plaquetaria y por tanto de trombos. También hay otro fenómeno anormal que es el crecimiento de un tejido de neoformación que se adhiere al anillo de la prótesis y se prolonga en ocasiones hacia los discos móviles, llamado “pannus”, [21-25], que también es un obstáculo importante para la movilidad de los discos que llegan a ver limitadas sus excursiones y en ocasiones hasta impedidas con el consecuente derrumbe de la función de valva y sus fatales consecuencias. Cuando esto llega a pasar, el paciente debe ser atendido de inmediato en un centro especializado donde se le pueda tratar de corregir esto y si no lo está el acontecimiento es fatal en poco tiempo.

Por el contrario, las bioprótesis prácticamente mantienen el flujo normal de las valvas naturales, proporcionando un flujo único, central, de tipo newtoniano, lo que impide todas las consecuencias anotadas para las prótesis mecánicas. Además, en casos de falla estructural, las posibilidades de falla aguda son mínimas y le permite al paciente contar con un período de varios días para acudir a un centro en donde pueda ser atendido. La anticoagulación no es indispensable en los pacientes que son portadores de ellas. Por ello, la calidad de vida es superior.

Mucho se ha escrito sobre la durabilidad de ambos tipos de prótesis. De las mecánicas se afirmaba que eran para toda la vida del paciente y de las biológicas que tenían una vida útil corta, debido a la calcificación sobre todo. Pero el avance en el diseño de las bioprótesis, el tener mejor preparación, contar con nuevos materiales para su aparato de sostén y sobre todo el de agregarles un sistema de protección, ha terminado por hacer que su vida útil se prolongue tanto o más que la de las mecánicas, sin los inconvenientes de ellas, razones por las cuales hoy en día se han sustituido en prácticamente todo el mundo las prótesis mecánicas por biológicas. Pocos países, entre ellos por desgracia México, son los que se aferran a la anticuada idea de que las prótesis mecánicas son mejores y más duraderas. Pero la experiencia ha demostrado lo contrario y han sido sustituidas por las innegables ventajas de las bioprótesis, al grado de que entidades muy serias como el American College of Cardiology (ACC) y la American Heart Association (AHA) aceptan que lo más recomendado y juicioso es utilizar en la mayoría de los casos bioprótesis, inclusive en personas jóvenes [26], como lo demuestra el trabajo muy reciente de una serie de hospitales en Inglaterra e Irlanda llegando en la actualidad a ser utilizada en casi 80 %

de biológicas contra 20 % de mecánicas. Según cifras de la AHA/ACC, en el periodo de 1999 a 2002, la proporción de implantes protésicos mecánicos disminuyó de 41% a 33%, con el consecuente aumento de las biológicas de 50% a 65% en ese mismo marco temporal [27].

Otra demostración rigurosa de que este cambio de prótesis mecánicas a biológicas es ya una realidad, es un trabajo del Dr. Albert Starr, pionero en la cirugía valvular, quien publica en 2007 un trabajo que ejemplifica con una gráfica muy significativa de dicho cambio en los últimos años entre 2003 y 2005, alcanzando una proporción de hasta 80% para el uso de las bioprótesis en posición aórtica [28].

Por desgracia en nuestro país, la situación en el uso de bioprótesis es exactamente al revés, algo totalmente inexplicable e injustificable, salvo en nuestra institución, en donde la proporción de los últimos tiempos es de 80 % de promedio de prótesis biológicas.

En la historia de las prótesis cardíacas se pasó por diversas etapas en el desarrollo de bioprótesis con heteroinjertos (porcinas) [29,30] y homoinjertos [31,32], duramadre [33-35], fascia lata [36-39] preparados con antibióticos [40] y otras sustancias como mercurio cromo, formalina, glicerol [41-42] con resultados un tanto desalentadores, hasta que en los años 70s, el Dr. Alain Carpentier en Francia utilizó el glutaraldehído (GA) como mecanismo para preparar con mayor seguridad estos biomateriales [43,44].

El pericardio bovino, es la materia prima biológica que se ha usado más frecuentemente para la manufactura de bioprótesis cardíacas. El principal componente del pericardio es la colágena de tipo I, una proteína de matriz extracelular perteneciente a una gran familia de proteínas, estrechamente relacionadas entre sí, que se conoce como la superfamilia de las colágenas, de las cuales hasta el momento se han descrito al menos 17 tipos genéticos diferentes. En el caso particular de la colágena tipo I, existe una composición genérica que puede describirse como la repetición de la secuencia Gli X-Y, en donde la posición X casi siempre se encuentra ocupada por un residuo de prolina o hidroxiprolina, y la posición Y frecuentemente es ocupada por lisina o hidroxilisina; aunque esta posición Y es mas variable y puede ocuparse por otros aminoácidos. De estos 17 tipos de colágena, 6 son los más importantes y frecuentes y de ellos la de tipo I es la más numerosa.

Ante la evidencia de que los tejidos biológicos en las bioprótesis terminan calcificándose, desde hace varios años muchos grupos se han dado a la tarea de investigar las causas de ella así como la menor duración de las bioprótesis. Estas investigaciones han aclarado varios puntos, aunque finalmente no se conocen en su totalidad y a satisfacción todos los mecanismos que llevan a la mencionada calcificación, se ha avanzado mucho en este campo [45-46].

Se sabe que el glutaraldehído es un buen preparador tisular, pues ayuda a fijar y alinear las fibras de colágena, ayuda a hacerlo menos antigénico, más resistente y mantiene

la elasticidad [47], además de que esteriliza el tejido biológico. Al mismo tiempo de conocer estos efectos benéficos del GA, ahora se sabe que las moléculas de él que permanecen en los tejidos, atraen al calcio que termina fijándose a las bioprótesis [48,49]. La solución de GA, tiene como objetivo la fijación del tejido, por lo que dicha solución actúa principalmente sobre los residuos de lisina, hidroxilina, prolina e hidroxiprolina, formando bases de Schiff y provocando un entrecruzamiento de las moléculas de colágena (“puentes químicos”) lo que le confiere una mayor resistencia. Sin embargo, los grupos aldehídos que no reaccionaron, permanecen libres y pueden reaccionar muy fácilmente con grupos amino primarios presentes en prácticamente todas las proteínas; los grupos amino secundarios se encuentran predominante en forma catiónica a un pH neutro y por lo tanto los cambios en la carga neta de la proteína son considerablemente menores, lo que los hace menos reactivos.

Con esta preparación, que garantiza que en el tejido se alineen las fibras de colágena y se formen puentes químicos entre las diversas capas de ésta en el pericardio, se asegura que el tejido preparado con GA sea dúctil y resistente además de quedar esterilizado en las prótesis manufacturadas con este tejido tratado, pero que tendrán siempre el amago de la calcificación.

Como ya se mencionó, el componente principal del pericardio es la colágena tipo I. La solución de GA, tiene como objetivo la fijación del tejido, por lo que dicha solución actúa principalmente sobre los residuos de lisina, hidroxilina, prolina e hidroxiprolina, formando bases de Schiff y provocando un entrecruzamiento de las moléculas de colágena (“puentes”) lo que le confiere una mayor resistencia, sin embargo, los grupos aldehídos que no reaccionaron, permanecen libres y pueden reaccionar muy fácilmente con grupos amino primarios presentes en prácticamente todas las proteínas; los grupos amino secundarios se encuentran predominante en forma catiónica a un pH neutro y por lo tanto los cambios en la carga neta de la proteína son considerablemente menores, lo que los hace menos reactivos.

Debido al proceso que actualmente se sigue para la preservación de los pericardios empleados como bioprótesis, la presencia de grupos aldehídos reactivos, en el momento de su aplicación, es inminente. Por las razones expuestas, estos grupos funcionan como centros en los que fácilmente se pueden depositar moléculas presentes en el plasma, incluidos algunos cationes, por lo que uno de los problemas importantes que presentan actualmente los bioimplantes es su tendencia a calcificarse de una manera relativamente fácil y fuera de control o previsión. Esta calcificación podría deberse al menos parcialmente, al mecanismo expuesto antes.

Por otra parte, el uso del glutaraldehído como acoplante de proteínas es ampliamente conocido y utilizado en una gran variedad de técnicas bioquímicas e inmunológicas. Como ejemplo se encuentra el método descrito por Avrameas para conjugar enzimas a los anticuerpos, o el descrito por Kishida para acoplar ferritina o bien el empleado por Nicholson para conjugar hemocianina también a moléculas de anticuer-

pos. En todos estos procesos resulta indispensable eliminar los grupos aldehídos funcionales que permanecen después de conjugar las proteínas, dado que en la mayoría de los casos estos conjugados se pondrán en presencia de otras proteínas que son potencialmente reactivas por la presencia de grupos amino libres, principalmente amino primarios. Para evitar esta reacción no deseada, los grupos aldehído deben bloquearse. Esto puede lograrse con varios aminoácidos, proteínas o sustancias que contenga grupos aminos primarios libres. Esto es posible gracias a la presencia de grupos amino en altas concentraciones, los cuales interactúan y agotan por completo los grupos aldehído reactivos.

Con esta preparación, que garantiza que en el tejido se alineen las fibras de colágena y se formen puentes entre las diversas capas de ésta en el pericardio, se asegura que el tejido preparado con GA sea dúctil y resistente en las prótesis manufacturadas con este tejido tratado, pero que tendrán siempre el amago de la calcificación. Por ello nos enfocamos en buscar un mecanismo de protección experimentando tanto *in vitro* como *in vivo* agregando al tejido después de la preparación, un aminoácido, la glicina, que es el más sencillo de los aminoácidos pues sólo tiene un aldehído libre, y por sustitución covalente con el GA del pericardio bovino, elimina la posibilidad de que sus aldehídos libres se puedan unir a otras sustancias al quedar estos saturados y neutralizados con la glicina y no quedan en el pericardio aldehídos libres en donde se pudiera fijar calcio u otras sustancias (calcio, colesterol, fierro, lípidos, etc). Por tanto inhibe la calcificación, prolongando con ello el tiempo útil de vida de las prótesis así tratadas.

A la luz de estos datos y con la experiencia clínica de que efectivamente las bioprótesis se calcifican, hoy existe el consenso de que dichas prótesis deben estar protegidas de alguna manera contra la calcificación, pues el daño a la parte biológica por este fenómeno puede causar daños estructurales tan severos como endurecimiento general de las valvas, falla en su movimiento y en ocasiones hasta ruptura que obligan a reoperar al paciente. En la **Figura 1**, se muestra una bioprótesis con sus valvas endurecidas, calcificadas y hasta con ruptura de una de ellas. Así pues, queda manifiesto que si no son protegidas con algún método contra la calcificación, terminarán inevitablemente sufriendo deterioro estructural y su vida útil será más corta, lo que obligaría a nuevos cambios valvulares y el riesgo y costo inherentes a esta situación.

El seguimiento clínico dado a prótesis tratadas con algún sistema anticalcificante, ha mostrado de manera indudable que se han conseguido buenos resultados para este serio problema cuando se utiliza algún tipo de protección. La durabilidad de las prótesis con este tratamiento ha mejorado de manera ostensible. En los años 80s, cuando las bioprótesis tenían menos años de implantación y por supuesto aun no se utilizaba ningún sistema anticalcificante, la sobrevida promedio de las bioprótesis era de 8-10 años. Al mejorar los diseños, materiales y sobre todo al agregar algún sistema anticalcificante, esta sobrevida está hoy en promedio entre 15 y 18 años, casi el doble como producto de la aplicación de todos estos sistemas.

En su experiencia de manufacturar bioprótesis nuestra

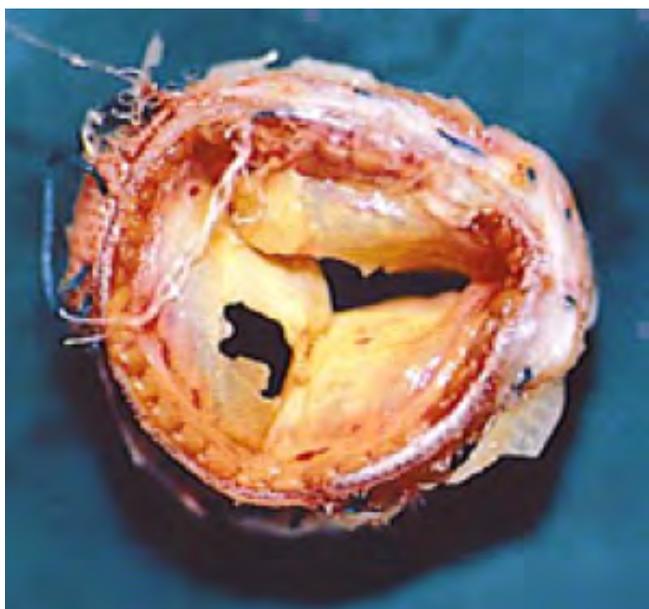


Figura 1. Bioprótesis disfuncional

institución ha demostrado también una situación semejante, pues actualmente, ya con la aplicación de este método y 1362 prótesis colocadas en 10 años, ninguna de estas prótesis ha sufrido deterioro visible o clínico que obligara a cambiarlas, lo que significa que estará estadísticamente en rangos similares al menos o quizá mejores que lo mostrado en la literatura mundial sobre el tema. En términos generales hasta la fecha se han desarrollado y utilizado varias técnicas para buscar mitigar, disminuir o evitar la calcificación de las bioprótesis y en la práctica clínica se han aplicado cuatro grandes ideas y métodos para ese fin.

Estos métodos se pueden englobar de la siguiente manera:

- A- Remoción de lípidos (fosfolípidos, colesterol, etc.)
- B- Sustitución covalente (INC)
- C- Detergentes
- D- Remoción de GA (investigación del INC)

El primero de ellos -A- es importante pues esos componentes lipídicos normales en el pericardio y prácticamente en cualquier tejido, pueden atraer del torrente sanguíneo calcio iniciando la primera etapa de la calcificación, la nucleación. Las sustancias más utilizadas para este fin son el etanol, metanol y el cloroformo.

El segundo -B- también es muy importante, pues el GA del que está impregnado el pericardio, por una reacción química, puede unir sus grupos amino libres con los del calcio circulante, provocando así el inicio -nucleación- y continuación del fenómeno de la calcificación distrófica. Si se cubren estas posibles uniones con otras sustancias, -en este caso un sistema anticalcificante- en teoría estas ya no podrán ser utilizadas por el calcio. Las sustancias más utilizadas para este fin son el ácido aminoléico, el fierro, el aluminio y algunos ami-

noácidos. Este mecanismo posiblemente sea el mejor y más efectivo para evitar la calcificación.

El tercero, -C- tiene un propósito similar al anterior y las sustancias más utilizadas son el sulfato sodio dodecil, el ácido aminoléico y el ácido L-glutámico. Su efecto no es tan completo como el anterior.

El cuarto, -D- es otro mecanismo para remover desde el principio prácticamente todo el GA, buscando que la posibilidad de que se adhiera calcio sea mínima, este método implica: a) dejar en GA el menor tiempo posible al tejido y por tanto la concentración del GA será menor, lo cual hace que la posibilidad de que se le adhiera calcio es mínima, b) utilizar la glicina desde el principio y c) el no almacenar en aldehído la bioprótesis hasta su uso clínico (lo cual puede durar meses o años y por tanto volver a depositar en el tejido más aldehído) método que en su conjunto la protege de volver a tener aldehído en su superficie y por tanto menos posibilidad de calcificación. Actualmente todas las casas comerciales que utilizan alguno de los métodos de anticalcificación, aunque lo apliquen en forma profesional y estricta, terminan todos, almacenando su producto en algún aldehído hasta su uso clínico con lo que, si se había logrado proteger al tejido de una futura acumulación de calcio con su sistema, al poner nuevamente sus prótesis durante meses o años en aldehído, la cantidad de este que se adhiere al tejido sobrepasa fácilmente el nivel de protección que tenía y nuevamente quedan muchos sitios aminos aptos para unirse al calcio y el efecto logrado con el sistema que hayan utilizado ya no es efectivo.

MATERIAL Y MÉTODOS

El método a seguir fue el de realizar el proceso para este protocolo in vitro y también in vivo. En el proceso in vitro el tejido utilizado (pericardio bovino) se colocó en una solución de glutaraldehído al 0.5% a un pH de 7.2 a en intervalos de tiempo que fueron de 24 horas, 7 y 15 días; una vez preparados con GA los pericardios se lavaron con solución fisiológica al 0.9% y a continuación se trataron con una solución de glicina al 5% por 24 horas a una temperatura de 4° C. Los pericardios se cortaron en segmentos de 1 cm cuadrado y se almacenaron en una solución con glicerina al 50% a una temperatura ambiente hasta su implante subcutáneo en cobayos (in vivo), a los que se les dividió en cuatro grupos de seis animales cada uno con el tratamiento mostrado en la **Tabla 1**.

TABLA 1. TRATAMIENTO DEL PERICARDIO EN IMPLANTACIÓN SUBCUTÁNEA EN COBAYOS

GRUPO	TRATADOS CON GLUTARALDEHÍDO 0.5%	TRATADOS CON GLICINA 0.5%
A	24 horas	24 horas
B	07 días	24 horas
C	15 días	24 horas

Se formaron dos grupos de animales de experimentación. El primero de ellos comprendió a su vez 3 subgrupos (A,B, C) en que todas las muestras que se implantaron fueron tratadas con GA: el grupo A estuvo 24 horas en él, el B 7 días y el C 15 días

Los 24 cobayos hembra de la cepa Hartley de 6 semanas de nacidos contaron con un peso promedio de 375 g. En un mismo día todos los animales se anestesiaron con éter y se les hizo una incisión en la parte dorsal media de aproximadamente 1 cm, por la cual se colocó la muestra en forma subcutánea; a cada grupo de animales de acuerdo al implante se les

colocó una marca. El periodo de permanencia del implante fue de 30, 90 y 180 días, sacrificando 2 animales de cada grupo en cada uno de estos periodos y retirando así el implante para su estudio correspondiente.

RESULTADOS

Se muestra lo siguiente en la **Figura 2**: en la **Fig. 2A** se observa un segmento rectangular de pericardio bovino tratado sólo con GA. Las **Fig. 2B** y **Fig. 2C** muestran como con el tratamiento a base de glicina se elimina por completo la cantidad



Figura 2. Fig 2A (24 horas) se observa un segmento rectangular de pericardio bovino tratado sólo con glutaraldehído al 0.5%. Las Fig. 2B (7 días) y Fig. 2C (15 días) con el tratamiento a base de glicina al 0.5% por 24 horas. El glutaraldehído residual es prácticamente nulo.

de glutaraldehído que posteriormente puede ser una fuente potencial de fijación de calcio.

El análisis de estas pruebas in vitro, muestra que la cantidad de moléculas de GA que permanecen en el tejido así tratado y que potencialmente pueden atraer otras de calcio una vez colocadas en el paciente, prácticamente desaparecen con el tratamiento a base de glicina. Como se muestra en la **Fig. 2A**, la cantidad de GA acumulado en el tejido es muy importante y la tinción así lo demuestra. El tiempo de exposi-

ción de ese pericardio fue de 24 horas, tratado solamente con GA. En la **Fig. 2B**, el tiempo de exposición al glutaraldehído fue de 7 días, pero al ser tratado además con glicina por 24 horas, se muestra cómo la cantidad de glutaraldehído residual ha disminuido considerablemente. En la **Fig. 2C**, en donde el tiempo de exposición al GA fue de 15 días, cuando se somete al tratamiento anticalcificante con glicina, el GA residual es prácticamente nulo.

El siguiente paso fue extraer los segmentos de pericardio

TABLA 2. CONCENTRACIONES DE CALCIO *

COBAYOS SACRIFICADOS EN :	TIEMPO DE EXPOSICIÓN AL GLUTARALDEHÍDO	PERICARDIO TRATADO CON GLUTARALDEHÍDO SIN GLICINA	PERICARDIO TRATADO CON GLUTARALDEHÍDO CON GLICINA
UN MES	24 horas	2.98	0.399
	7 días	4.03	0.67
	14 días	9.35	1.03
TRES MESES	24 horas	3.96	0.61
	7 días	8.12	0.927
	14 días	12.15	1.26
SEIS MESES	24 horas	4.83	0.69
	7 días	15.25	1.01
	14 días	22.05	1.52

* Las cantidades de calcio se expresan en mg/g de tejido seco

implantados en los cobayos para analizar si se había depositado calcio en ellos. Esto se hace en un equipo especial -fotometro de absorción atómica- con una preparación especial y que nos reporta la cantidad de calcio que se ha acumulado en cada muestra de pericardio. Los resultados se reportan en mg/g de tejido seco, partiendo de la base previamente encontrada de que el pericardio contiene per se, 2.83 mg/g, como muestra la **Tabla 2**.

Los resultados en la **Tabla 2** demuestran que en el grupo A, tratado solamente con GA pero sin la base del sistema anticalcificante (glicina) desde el principio, a pesar del poco tiempo de permanencia del tejido en GA, la cantidad de calcio acumulado es ya un poco mayor que la propia del pericardio (2.98 contra 2.83) y que estas cantidades se incrementan a los 14 días a cifras de 9.35 en los animales que tuvieron la muestra durante un mes. Del segundo grupo -B- también tratado el pericardio sólo con GA a treinta días, las muestras mostraron cifras aun mayores, de 3.96, 8.12 y 12.15. En el grupo -C- sacrificado a 6 meses, estas mediciones de la cantidad de calcio acumulado fueron de 4.83, 15.25 y 22.05, lo cual es muchas veces mayor que el original del tejido, signo inequívoco del mecanismo de atracción tanto del tejido mismo, como del GA remanente en el pericardio.

Por el contrario, en el grupo del pericardio tratado con GA, pero con la adición del sistema anticalcificante (glicina), estas cifras fueron sorprendentemente menores. En el primer grupo, -A- sacrificado al mes, el reporte del calcio es de solamente 0.399, 0.670 y 1.03, cifras que como se puede observar están incluso por debajo de lo normal. A los tres meses estas cifras han aumentado levemente a 0.61, 0.927 y 1.20 y la observación es la misma que para el grupo de un mes. Y finalmente con el grupo sacrificado a seis meses, las muestras reportan cantidades de calcio de 0.69, 1.01 y 1.52 respectivamente.

DISCUSIÓN

No cabe duda del papel que juega el glutaraldehído en la preparación de tejidos biológicos. Por una parte, permite la fijación de la colágena, haciendo el tejido suficientemente fuerte y dúctil como para ser usado en bioprótesis cardiacas y además lo esteriliza, descubrimiento del Dr. Carpentier en bioprótesis porcinas y posteriormente con otras de pericardio bovino [43,44]. Pero al mismo tiempo que asegura estas propiedades, se vuelve una arma de dos filos, pues el glutaraldehído utilizado en el tejido, posteriormente se vuelve un polo de atracción para el calcio, y esto va a traducirse en rigidez de la prótesis e incluso de ruptura, lo cual reduce considerablemente la vida útil de estas prótesis (**Fig. 1**).

Queda claro que las bioprótesis tienen un hemodinamia excelente, debido a su capacidad de mantener un flujo central y único, que permiten al portador de ellas mantener una calidad de vida muy cercana a lo normal, sin ruidos que alteren al paciente (como sucede con las prótesis mecánicas), sin el gradiente de las mecánicas, sin la absoluta necesidad de anticoagulación (que es uno de los varios y graves inconvenientes

que hacen a las prótesis mecánicas indeseables, ó cuando menos más riesgosas). Por otro lado, como ya se ha mencionado, para las bioprótesis existe el peligro siempre latente, sobre todo en paciente jóvenes, de la mencionada calcificación.

Por ello, encontrar un mecanismo que haga que las bioprótesis no se calcifiquen, ó al menos que lo hagan a un largo plazo, es una premisa hoy en día indispensable para ellas. Con este procedimiento que presentamos, se muestra claramente tanto in vitro como in vivo, cómo el glutaraldehído después de cumplir su cometido de preparar y esterilizar el tejido biológico, prácticamente se elimina y evita la calcificación y se abre el camino para que este tipo de prótesis, que tan bien se comporta hemodinámicamente, puedan ser utilizados tanto en pacientes jóvenes como en mayores con la seguridad de que el temido fenómeno de calcificación no contará como en el pasado para acortar la vida útil de ellas.

A manera de conclusión, podemos decir que las bioprótesis son superiores hemodinámicamente que las prótesis mecánicas, pero su vida útil se puede acortar debido al proceso de calcificación por la atracción de los iones de calcio por el glutaraldehído usado en su preparación y depositado en la colágena de ellos. Este sistema desarrollado en el INC y probado in vitro e in vivo, reduce de tal manera la posibilidad de agregación del calcio, que la calcificación es mínima ó al menos se detiene considerablemente, con lo cual la vida útil de las bioprótesis se alarga de manera muy importante, haciéndolas apropiadas aún para pacientes jóvenes. Este procedimiento pasó ya a la etapa clínica y se han colocado en los últimos 10 años, 1362 prótesis tratadas con este sistema, sin que hasta el momento se haya reportado ninguna reoperación por calcificación en ellas. Esto será motivo de otro reporte.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos respetuosamente al Departamento de Bioquímica del Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez" por la valiosa ayuda en la preparación y lectura de las cantidades de calcio de las muestras.

FINANCIAMIENTO: Ninguno.

DECLARACIONES: Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

REFERENCIAS

1. Ross D. The versatile homograft and autograft valve. *Ann Thorac Surg* 1989; 48: S69-70.
2. Ross DN, Somerville J. Correction of pulmonary atresia with a homograft aortic valve. *Lancet* 1966; 2:1446-7.
3. Li CP, Chen SF, Lo CW, Lu PC. Turbulence characteristics downstream of a new trileaflet mechanical heart valve. *ASAIO Journal* 2011; 57:188-96.
4. Hwang NCH. Cavitation in mechanical heart valve prostheses. *J Heart Valve Dis* 1998; 7: 140-50.
5. Liu JS, Lu PC, Chu SH. Turbulence characteristics downstream of bileaflet aortic valve prostheses. *J Biomech Eng* 2000;122: 118-24.

6. Hanle DD, Harrison EC, Yoganathan AP, Corcoran WH. Turbulence downstream from the Ionescu Shiley bioprosthesis in steady and pulsatile flow. *Med Biol Eng Comput* 1987;25: 645-9.
7. Nygaard H, Giersiepen M, Hasenkam JM, et al. Two-dimensional color-mapping of turbulent shear stress distribution downstream of two aortic bioprosthetic valves in vitro. *J Biomech* 1992; 25: 429-40.
8. Edmunds LH. Thrombotic and bleeding complications of prosthetic heart valves. *Ann Thorac Surg* 1987;44:430-45.
9. Yoganathan AP, Corcoran WH, Harrison EC, Carl JR. The Bjork-Shiley aortic valve-prosthesis: Flow characteristics, thrombus formation and tissue overgrowth. *Circulation* 1978; 58:70-6.
10. Lim WL, Chew YT, Chew TC, Low HT. Pulsatile flow studies of a porcine bioprosthetic aortic valve in vitro: PIV measurements and shear-induced blood damage. *J Biomech* 2001; 34: 1417-27.
11. Ellis JT, Wick TM, Yoganathan AP. Prosthesis-induced hemolysis: Mechanisms and quantification of shear stress. *J Heart Valve Dis* 1998; 7: 376-86.
12. Levine MN, Raskob G, Hirsh J: Hemorrhagic complications of long-term anticoagulation therapy. *Chest* 1989; 95: 265-365.
13. Lee RJ, Bartzokis T, Yeoh T, Grogan HR, Choi D, Schnittger I. Enhanced detection of intracardiac sources of cerebral emboli by transesophageal echocardiography. *Stroke* 1991; 22: 734-9.
14. Orsinelli DA, Pearson AC. Detection of prosthetic valve strands by transesophageal echocardiography. Clinical significance in patients with suspected cardiac source of embolism. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26: 1713-8.
15. Isada LR, Torelli JN, Stewart WJ, Klein AL. Detection of fibrous strands on prosthetic mitral valves with transesophageal echocardiography: another potential embolic source. *J Am Soc Echocardiogr* 1994;7:641-5.
16. Hutchinson K, Hafeez F, Woods TD, et al. Recurrent ischemic strokes in a patient with Medtronic-Hall prosthetic aortic valve and valve strands. *J Am Soc Echocardiogr* 1998; 11: 755-7.
17. Carey RF, Porter JM, Richard G, et al. An interlaboratory comparison of the FDSA protocol for the evaluation of cavitation potential of mechanical heart valves. *J Heart Valve Dis* 1995; 4: 532-41.
18. Hwang NH. Cavitation of mechanical heart valves. *J Heart Valve Dis* 1995; 4: 531.
19. Kafesjian R, Howanec M, Ward GD, et al. Cavitation damage of pyrolytic carbon in mechanical heart valves. *J Heart Valve Dis* 1994; 3: S2-7.
20. He Z, Xi B, Zhu K, Hwang NH. Mechanicals of mechanical heart valve cavitation: Investigation using a tilting disk valve model. *J Heart Valve Dis* 2001; 10: 666-74.
21. Naito Y, Hachida M, Shimabukuro T, Nonoyama M, Endo M, Koyanagi H. St. Jude Medical prosthetic aortic valve malfunction due to pannus formation. *Jpn J Thorac Cardiovasc Surg* 2000; 48: 739-41.
22. Hurwitz SE, Waxman D, Hecht S. Acute failure of a St. Jude's prosthetic aortic valve: large pannus formation masked by a small thrombus. *J Am Soc Echocardiogr* 2009;22:1086.e1-3. doi: 10.1016/j.echo.2009.04.001.
23. Vitale N, Renzulli A, Agozzino L, et al. Obstruction of mechanical mitral prostheses: analysis of pathologic findings. *Ann Thorac Surg* 1997; 63: 1101-6.
24. Sakamoto Y, Hashimoto K, Okuyama H, Ishii S, Shingo T, Kagawa H. Prevalence of pannus formation after aortic valve replacement: clinical aspects and surgical management. *J Artif Organs* 2006; 9: 199-202.
25. Deviri E, Sareli P, Wisenbaugh T, Cronje SL. Obstruction of mechanical heart valve prostheses: clinical aspects and surgical management. *J Am Coll Cardiol* 1991;17:646-50.
26. Dunning J, Gao H, Chambers J, et al. Aortic valve surgery: Marked increases in volume and significant decreases in mechanical valve use—an analysis of 41,227 patient over 5 years from the Society for Cardiothoracic Surgery in Great Britain and Ireland National database. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2011; 142: 776-82.
27. Bonow RO, Carabello BA, Chatterjee K, et al. 2008 Focused update incorporated into the ACC/AHA 2006 guidelines for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 1998 Guidelines for the Management of Patients With Valvular Heart Disease): endorsed by the Society of Cardiovascular Anesthesiologists, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and Society of Thoracic Surgeons. *Circulation* 2008; 118(15): e523-661. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.190748. Epub 2008 Sep 26.
28. Starr A. The artificial heart valve. *Nature medicine* 2007; 13: 1160-4.
29. Goffin YA, Bertik MA, Hilbert SL. Porcine aortic vs bovine pericardial valves: a morphologic study of the Xenomedica And Mitroflow bioprostheses. *Z Kardiol* 1986; 75 (Suppl2):213-22.
30. Carpentier A. From valvular xenografts to valvular bioprosthesis (1965-1977). *Med Instrum* 1977;11:98-101.
31. Ross DN. Homograft replacement of the aortic valve. *Lancet* 1962; 2: 487-90.
32. Angell WW, Iben AB, Shumway NE. Fresh aortic homografts for multiple valve replacement. *Arch Surg* 1968; 97: 826-30.
33. Puig LB, Verginelli G, Kawabe L, Zerbini EJ. Homologous dura mater cardiac valve. Method of preparing the valve. *Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo.* 1974;29(2):85-9.
34. Puig LB, Verginelli G, Iryia K, et al. Homologous dura mater cardiac valves. Study of 533 operated cases. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1975; 69: 722-8.
35. Petropoulos PC. Fate of dura mater homograft covering defects of right ventricle. *Surgery* 1962; 52: 883-9.
36. Ionescu MI, Ross DN. Heart valve replacement with autologous fascia lata. *Lancet* 1969; 2(7616): 335-8.
37. Inoescou MI, Ross DN, Deac R, et al. Autologous fascia lata for heart valve replacement. *Thorax* 1970; 25(1): 46-56.
38. Schwartz H, Senning A. Autogreffe des valves aortiques. *Ann Chir Thorac Cardiovasc* 1966; 5(2): 271-4.
39. Senning A. Fascia lata replacement for aortic valves. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1967; 54(4): 465-70.
40. Puig LB, Verginelli G, Belloti G, et al. O uso da duramater homóloga en cirurgia cardíaca. *Arq Bras Cardiol* 1973; 26: 295-302.
41. Lex A, Raia A. Use of homologous dura mater, preserved in glycerin, in the treatment of incisional hernia. *Rev Paul Med* 1971; 77: 123-8.
42. Pigossi N, Raia A, Lex A, et al. Experimental and clinical study on the use as a transplant of homogenous dura mater preserved in glycerin at room temperature. *AMB Rev Assoc Med Bras* 1971; 17(8): 263-77.
43. Carpentier A, Lemaigre G, Robert L, Carpentier S, Dubost C. Biological factors affecting long term results of valvular heterografts. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1969; 58(4): 467-83.
44. Carpentier A. The concept of bioprosthesis. *Thoraxchir Vask Chir* 1971; 19(5): 379-83.
45. Jorge-Herrero E, Fernández P, de la Torre N, et al. Inhibition of the calcification of porcine valve tissue by selective lipid removal. *Biomaterials* 1994; 15: 815-20.
46. Khor E. Methods for the treatment of collagenous tissues for bioprosthesis. *Biomaterials* 1997; 18: 95-105.
47. Sacks MS, Choung CJC, More R. Collagen fiber architecture of bovine pericardium. *ASAIO J* 1994; 40: M632-7.
48. Jayakrishnan A, Jameela SR. Glutaraldehyde as a fixative in bioprosthesis and drug delivery matrices. *Biomaterials* 1966;17:471-84.
49. Golomb G, Schoen FJ, Smith MS, Linden J, Dixon M, Levy RJ. The role of glutaraldehyde-induced crosslink in calcification of bovine pericardium used in cardiac valve tissue bioprosthesis. *Am J Pathol* 1987; 127:122-30.