

Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

Volumen
Volume **18**

Número
Number **3**

Julio-Septiembre
July-September **2005**

Artículo:

Uso del pericardio bovino tratado con glutaraldehído

Derechos reservados, Copyright © 2005:
Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

Otras secciones de este sitio:

- ☞ Índice de este número
- ☞ Más revistas
- ☞ Búsqueda

Others sections in this web site:

- ☞ *Contents of this number*
- ☞ *More journals*
- ☞ *Search*



edigraphic.com

Uso del pericardio bovino tratado con glutaraldehído

DIANA PÉREZ COVARRUBIAS*

AVELINA SOTRES VEGA†

ROGELIO JASSO VICTORIA†

J. RAÚL OLMOZ ZÚÑIGA†

JAIME VILLALBA CALOCA†

J. ALFREDO SANTIBÁÑEZ SALGADO†

PATRICIO SANTILLÁN DOHERTY§

* Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.

† Departamento de Cirugía Experimental. Unidad de Investigación, INER.

§ Departamento de Cirugía Experimental. INCIMNSZ.

Trabajo recibido: 17-II-2005; aceptado: 21-VII-2005

224

RESUMEN

El uso de las prótesis mecánicas y biológicas surgió de la necesidad de reemplazar quirúrgicamente la falta o la falla de un órgano. Las bioprótesis están hechas a partir de tejido autólogo, homólogo y heterólogo. La bioprótesis de pericardio bovino tratada con glutaraldehído es la más estudiada y se utiliza principalmente como bioprótesis cardiaca.

Palabras clave: Bioprótesis, pericardio bovino tratado con glutaraldehído. **Key words:** Bioprosthetic, glutaraldehyde-treated bovine pericardium.

Debido a su fácil preparación y uso, este material se ha empleado para reparar defectos herniarios de la pared abdominal, la pared torácica, de diafragma y para sustituir vasos y tráquea; sin embargo, causa reacción de rechazo y tipo cuerpo extraño, los que han sido estudiados ampliamente para evitarlos. Presentamos una revisión de la literatura sobre el uso y estudio de la bioprótesis de pericardio bovino tratado con glutaraldehído.

INTRODUCCIÓN

El uso de materiales protésicos surgió de la necesidad de reemplazar quirúrgicamente la falta o falla de un órgano, o parte del mismo, por otro órgano o una parte artificial, dando origen al surgimiento de las prótesis mecánicas y las

ABSTRACT

The use of biological and mechanical prostheses arose from the need to replace a failing organ or function. Bioprostheses can be manufactured from autologous, homologous or heterologous tissue; glutaraldehyde treated bovine pericardium bioprostheses have been used extensively to repair diaphragmatic, abdominal and chest wall defects and to replace heart valves, blood vessels and tracheal segments, but the implanted tissue can elicit rejection or foreign body reaction; these have been extensively studied in order to avoid them. We review the literature regarding glutaraldehyde treated bovine pericardium bioprostheses.

bioprótesis. Las prótesis mecánicas en su gran mayoría son de materiales duros y resistentes como el acero, oro, platino, porcelana; las de tipo sintético están hechas a base de plástico, vidrio, carbono y polímeros. Las bioprótesis pueden ser de tejidos autólogos, homólogos y heterólogos.

El injerto autólogo es el que se toma del cuerpo del propio individuo; el injerto homólogo proviene de tejido de otro miembro de la misma especie, y el injerto heterólogo es el que se obtiene de una especie diferente.

Los injertos autólogos se han utilizado principalmente en cirugía reconstructiva; desafortunadamente, existe poca disponibilidad en el organismo, por lo que se ha recurrido al uso de prótesis mecánicas o bioprótesis y por consiguiente, los injertos homólogos son los utilizados para el trasplante de órganos y/o tejidos.

El injerto heterólogo más utilizado y estudiado es el pericardio bovino tratado con glutaraldehído (PBTG), que se ha usado principalmente para la construcción de bioprótesis cardíacas, parches y conductos vasculares.

ANATOMÍA Y ESTRUCTURA DEL PERICARDIO

El pericardio es una membrana que forma un saco fibroso, grueso, translúcido, de dos capas, compuesto por una hoja fibrosa externa que se adosa al esternón, a los grandes vasos y al diafragma, y por una membrana serosa interna. La capa fibrosa está cubierta por una lámina serosa de células cuboidales. El pericardio fibroso y su membrana serosa forman al pericardio parietal. La membrana serosa se refleja en la superficie epicárdica del corazón, junto con la cual forma el pericardio visceral. La cavidad pericárdica se localiza entre las capas visceral y parietal del pericardio seroso; en condiciones normales contiene de 15 a 50 mL de líquido claro, que es un ultrafiltrado del plasma sanguíneo. El pericardio fibroso se fusiona con la adventicia de los grandes vasos y su ápice forma el ligamento esternopericárdico^{1,2}.

Histología

El constituyente mayor del pericardio parietal es el tejido fibroso, cuyo principal componente son fibras compactas de colágeno dispuestas en tres capas orientadas en ángulos iguales entre sí, las cuales tienen la apariencia de un acordeón. Las fibras de elastina también forman parte del pericardio, aunque son menos numerosas, no forman fibras densas y tienden a estar orientadas en ángulo recto con respecto a las fibras de colágeno adyacentes.

La predominancia de colágeno y su configuración anatómica son muy importantes para las propiedades viscoelásticas del pericardio¹⁻³.

Ultraestructura

Las microfotografías con microscopía electrónica muestran que el pericardio está muy lejos de ser una masa inerte de tejido conectivo; más bien, es una estructura altamente organizada, con microvellosidades y cilios para la producción y absorción de líquido y facilitar el movimiento entre sí de las superficies de serosa¹⁻³.

USO DE PERICARDIO BOVINO TRATADO CON GLUTARALDEHÍDO

El PBTG es un material inerte. La mayor experiencia de su uso está en la fabricación de bioprótesis cardíacas; existen escasos reportes de la utilización clínica del PBTG para reparar defectos herniarios^{4,5}, en cirugía reconstructiva⁶, cirugía pediátrica^{7,8} y algunos reportes experimentales para la reparación de defectos herniarios⁹⁻¹² diafragmáticos¹³⁻¹⁵, reconstrucción del esternón¹⁶ y en resecciones pulmonares no anatómicas¹⁷.

225

Bioprótesis cardíaca

Ionescu¹⁸ introdujo en 1969 los parches de PBTG para el tratamiento de cardiopatías congénitas; en la actualidad son utilizados para la corrección quirúrgica de la obstrucción en la cámara de salida del ventrículo derecho y para el cierre de las comunicaciones interauricular e interventricular.

El trabajo pionero de Carpentier¹⁹ resultó en el desarrollo de bioprótesis valvulares cardíacas derivadas de tejidos no humanos (xenoinjertos o injertos heterólogos). En los inicios del uso de bioprótesis porcinas y de pericardio bovino tratadas con glutaraldehído, se observó que no había evidencia histológica de reacción inmuno-lógica de rechazo del huésped hacia la bioprótesis, por lo cual el glutaraldehído ha sido utilizado como factor de unión para mejorar la tolerancia y durabilidad de las bioprótesis, ya que cuenta con las siguientes propiedades^{19,20}:

a) Es un agente curtidor que aumenta la estabilidad del tejido por la formación de uniones cruzadas irreversibles entre las moléculas de colágeno para prevenir su degeneración y mantener la in-

tegridad arquitectónica de la bioprótesis, y b) reduce la antigenicidad del tejido de las bioprótesis, bloqueando el fenómeno de rechazo tardío.

Las bioprótesis son muy usadas en cirugía cardiaca debido a sus ventajas sobre las prótesis mecánicas: no requieren de anticoagulación debido a su baja trombogenicidad^{21,22}, menor flujo turbulento debido a su flujo central, y menor hemólisis²³. Además, sufren un deterioro gradual (de meses a años) en comparación con las fallas catastróficas que presentan las prótesis mecánicas. Estas ventajas clínicas han permitido que las bioprótesis hayan sido implantadas en más de 300,000 pacientes en aproximadamente 18 años; se calcula que se colocan alrededor de 20,000 bioprótesis por año en el mundo²¹⁻²⁵. Desafortunadamente, el proceso de mineralización de las cúspides de la bioprótesis han limitado su buen resultado a largo plazo, siendo la calcificación la responsable en más del 60% de los casos²¹⁻²⁵. Los estudios de Schoen²⁶, Fishbein²⁷, Ferrans²⁸ y Valente²⁹, han demostrado que la lesión predominante es el depósito de mineral en las valvas, predominantemente dentro de la capa esponjosa central de las mismas; el lugar específico de estos depósitos de calcio son las células desvitalizadas de tejido conectivo y colágena de la bioprótesis. Se ha propuesto que el núcleo de calcificación aparece como resultado de la adhesión y la muerte de células, las cuales contienen fosfato de calcio, fosfolípidos, lipoproteínas y enzimas²⁶⁻³¹. También se ha observado que la fosfatasa alcalina, enzima asociada con la matriz vesicular, se encuentra asociada en la nucleación mineral ósea, y esta enzima está presente en los sitios de mineralización de la bioprótesis. La fosfatasa alcalina puede hidrolizar el fosfoéster celular en su fosfato y, subsecuentemente, actuar como sitio de mineralización³²⁻³⁴. Estos investigadores han observado que la falla de estas bioprótesis resulta de la proliferación de sitios de calcificación que originan la formación de grandes nódulos de calcio, los cuales son mayores en las cúspides de las valvas, en donde se observan las mayores áreas de flexión, como son las comisuras y los puntos de anclaje en el anillo. Los nódulos de calcio disecan los planos tisulares de la bioprótesis causando endurecimiento y ruptura de la bioprótesis²⁶⁻³⁴. Schoen³⁰, Fish-

bein³⁵ y Levy³⁶, implantaron subdérmicamente pequeñas porciones de la bioprótesis en las ratas, y encontraron que después de 60 a 80 días había importantes cúmulos de calcio, equivalentes a los observados en el área clínica después de varios años de haber sido implantadas. Existe la hipótesis de que la calcificación ocurre como resultado de una compleja interacción de un importante número de factores dentro del huésped, y de determinantes del material bioprotésico. Hasta la fecha, se sabe que el factor más importante en el huésped es la edad, mientras que el factor determinante en el proceso de calcificación de la bioprótesis es su alteración por el glutaraldehído. Levy³⁶ reportó que el pericardio bovino y las válvulas aórticas porcinas pretratadas con glutaraldehído así como la colágena tipo 1 fijada con glutaraldehído, se mineralizaban cuando eran implantadas subdérmicamente en las ratas, mientras que cuando eran implantes frescos (sin ser tratadas con glutaraldehído) sufrían un ataque inflamatorio y digestión parcial sin mineralización. Golom³⁷ señala que el glutaraldehído potencia la calcificación de los implantes de pericardio bovino, pero sólo cuando existe un nivel suficiente de estabilización entre los entrecruzamientos del tejido y el material. Se requiere de un nivel crítico de incorporación del glutaraldehído para inducir el máximo de entrecruzamientos y conferir una mayor estabilidad al material, y sólo cuando se alcanza este nivel ocurre la severa calcificación del implante. Sin embargo, el hecho de incrementar dos o tres veces la cantidad de glutaraldehído no aumenta la calcificación de la bioprótesis, lo cual sugiere que la modificación de la estructura del pericardio bovino por el glutaraldehído es de suma importancia en el mecanismo de calcificación y que la incorporación de la molécula de glutaraldehído en el tejido es el principal determinante en la estabilidad y la formación de los entrecruzamientos de las fibras del pericardio bovino³⁷. Desafortunadamente, poco se conoce de la fisiopatología de este problema y no existe tratamiento efectivo. Se han establecido diferentes líneas de investigación con fármacos que deben actuar en estadios alternativos de la deposición de los fosfatos de calcio: a) modificación del implante de las cúspides con varios fármacos

anticalcificación, y b) Implante de un sistema controlado liberador de fármaco que facilite la anticalcificación local específica, evitando efectos colaterales sistémicos. Diversos investigadores han utilizado diferentes sistemas liberadores de polímeros locales con fármacos como FeCl₃, AlCl₃, difosfonatos, sulfato de protamina, etcétera. Los resultados han sido buenos, pero la gran mayoría de estos trabajos se han llevado a cabo en *vitro* o con pequeños roedores³⁸⁻⁴¹.

Bioprótesis abdominal

El mejor método para cierre de grandes defectos en la pared abdominal es la aproximación de los tejidos. Existen circunstancias —como en las hernias postincisionales— en las cuales la reconstrucción puede ser difícil o imposible por falta de tejido aponeurótico sano; en estos casos se puede requerir de la inserción de una prótesis. La prótesis ideal debe mantener una tensión adecuada, ser incorporada por el tejido circundante y no estimular la adhesión de las vísceras⁴²⁻⁴⁴. De los diferentes materiales sintéticos que se han probado, ninguno ha tenido aceptación universal⁴²⁻⁴⁴.

La frecuencia de hernias postincisionales varía de un 5% hasta el 35%⁴²⁻⁴⁴, y para su reparación se usan materiales sintéticos, como el polipropileno (Marlex)⁴⁵, nylon, poliéster (Mersilene), dacrón, vicryl⁴⁶ y politetrafluoroetileno (Goretex)⁴⁵. Desafortunadamente, en la literatura mundial no parece haber más de cinco reportes en los que se utilice el pericardio bovino tratado con glutaraldehído para reparar grandes defectos herniarios o postincisionales. La serie más grande es la publicada por Santibáñez^{4,5} en la que reportan 30 pacientes con hernia postincisional con un diámetro igual o mayor de 10 cm, que fueron tratados con una bioprótesis de PBTG. Los resultados fueron satisfactorios, el 20% presentó seroma, el 16%, infección de la herida quirúrgica, el 20% expulsó espontáneamente la bioprótesis o les fue retirada, y el 10% presentó recidiva del defecto herniario; también hubo formación de adherencias firmes con el epiplón. Todos los resultados son comparables con lo reportado en la literatura mundial utilizando mallas sintéticas, excepto la formación de seromas. Existen otros estudios experimentales del uso de PBTG para reparar defectos abdomi-

nales¹⁰⁻¹². Gallo¹⁴ reportó la reparación de hernias diafragmáticas en animales. El PBTG sirve como puente para la proliferación de tejido conectivo, principalmente colágena, y así, además de cerrar el defecto herniario, se ve reforzada por la proliferación de colágena^{9,12}, pero el PBTG crea reacción a cuerpo extraño, por lo cual el huésped lo expulsa^{4,5,8}. Olmos⁹ reporta el uso de PBTG liofilizado en ratas, comparándolo con el mismo pericardio bovino preservado en solución de Hank; encontraron que el PBTG liofilizado y no liofilizado se adaptó bien a la pared abdominal; microscópicamente hubo buena cicatrización con proliferación de fibroblastos, depósito de colágena sobre y en la periferia de la bioprótesis y vasos sanguíneos de neoformación, mientras que el PB tratado con solución de Hank fue rechazado, hubo necrosis, tanto en el borde quirúrgico como en la bioprótesis, reacción inflamatoria severa y abundantes células gigantes tipo cuerpo extraño.

El PBTG es difícil de almacenar y transportar, ya que debe de mantenerse en la oscuridad en solución de glutaraldehído al 0.5% amortiguada con buffer de fosfatos a pH de 7.4 a 4°C, y su transporte debe de ser en dicha solución a la temperatura de 4°C, se liofiliza para facilitar su almacenamiento y transporte^{4,5,9}. Maizato⁴⁷ reporta que PBTG liofilizado es menos citotóxico y tiene menor cantidad de residuos de glutaraldehído.

El PBTG y el PBTG liofilizado (PBTGL) se han evaluado en resecciones pulmonares no anatómicas por Olmos¹⁷, concluyendo que ninguno de los animales presentó fuga de aire en la cicatriz formada con el pulmón; macroscópica y microscópicamente el 100% de los casos mostró buena cicatrización con presencia de tejido fibroso sobre y en la periferia del PBTG, el PBTGL y el pulmón.

Jasso¹⁶ reportó que el PBTG fue utilizado para reparar el esternón, obteniendo resultados satisfactorios. Estudios con el PBTG, empleado como sustituto de la tráquea ha tenido malos resultados, debido al colapso de la bioprótesis por falta de soporte⁴⁸. (Tabla I).

Finalmente, el PBTG ha sido utilizado en niños para la corrección del cuerpo cavernoso del pene, obteniendo resultados favorables⁷; sólo País⁸ reporta el caso de un paciente donde utilizó PBTG para la corrección de la curvatura del cuerpo cavernoso, y éste presentó reacción de tipo cuerpo extraño.

Tabla I. Aplicación de la bioprótesis de pericardio bovino tratado con glutaraldehído.

Carpentier	1969	Válvulas cardíacas
Ionescu	1969	Tratamiento cardiopatías congénitas
Gallo JI	1982	Reparación de defectos diafragmáticos
Smith	1986	Cirugía plástica
Rey A	1990	Herniplastía ventral infraumbilical en equino
Reyes F	1990	Herniplastía ventral en caninos
Olmos	1990	Reparación de hernia diafragmática en perros
Arreola	1990	Sustituto de tráquea
Santibáñez	1993	Hernias postincisionales
Jasso	1995	Reconstrucción de esternón
Santillán	1996	Hernias toracoabdominales
Olmos	1996	Reparación de defectos abdominales en ratas
Hellstrom WJ	2000	Urología
Olmos	2002	Resecciones pulmonares
Pais VM Jr	2002	Urología
Santana	2003	Reparación de defectos diafragmáticos

CONCLUSIONES

El PBTG es una bioprótesis muy usada en cirugía cardiovascular, aunque menos para reparar defectos de la pared toracoabdominal. Es una bioprótesis fácil de obtener, de fácil preparación, conservación, transporte y bajo costo de producción, lo que la convierte en una buena alternativa; en general, tiene buenos resultados a largo plazo, pero desafortunadamente puede presentar calcificación y respuesta a cuerpo extraño, limitando su empleo.

REFERENCIAS

1. Holt JP. *The normal pericardium*. Am J Cardiol 1970;26:455-465.
2. Elias H, Boyd LJ. *Notes on the anatomy, embryology, and histology of the pericardium. II*. N Y Med Coll News Notes 1960;2:50-75.
3. Ishihara T, Ferrans VJ, Jones M, Boyce SW, Kawanami O, Roberts WC. *Histologic and ultrastructural features of normal human parietal pericardium*. Am J Cardiol 1980;46:744-753.
4. Santibáñez-Salgado JA. *Tratamiento quirúrgico de hernias postincisionales con pericardio de bovino tratado con glutaraldehído* (tesis). México, DF: UNAM; 1993.
5. Santillán-Doherty P, Jasso-Victoria R, Sotres-Vega A, et al. *Thoracoabdominal wall repair with glutaraldehyde-preserved bovine pericardium*. J Invest Surg 1996;9:45-55.
6. Smith DJ Jr, Jones CS, Hull M, Robson MC, Kleinert HE. *Bioprostheses in hand surgery*. J Surg Res 1986; 41:378-387.
7. Hellstrom WJ, Reddy S. *Application of pericardial graft in the surgical management of Peyronie's disease*. J Urol 2000;163:1445-1447.
8. Pais VM Jr, Jiang Z, Fung LC. *Foreign-body reaction to bovine pericardium: a previously unreported complication of pediatric chordee repair*. J Urol 2002;168:702-703.
9. Olmos-Zúñiga JR, Jasso-Victoria R, Sotres-Vega A, et al. *Utilización de pericardio bovino tratado con glutaraldehído liofilizado en la reparación de defectos abdominales en ratas*. Cir Gen 1996;18:161-165.
10. Rey A. *Herniplastía ventral infraumbilical en equino con pericardio de bovino tratado con glutaraldehído. Reporte de un caso*. Memorias del Primer Congreso Nacional de Cirugía Veterinaria. México, DF: UNAM;1990.
11. Reyes F. *Herniplastía ventral en caninos con bioprótesis de pericardio bovino tratado con glutaraldehído* (tesis). México, DF: UNAM;1990.
12. Santillán-Doherty P, Jasso-Victoria R, Sotres-Vega A, et al. *Reparación de defectos de pared toracoabdominal de perros con bioprótesis de pericardio bovino*. Rev Invest Clin 1995;47:439-449.
13. Olmos-Zúñiga JR. *Estudio funcional y microestructural de bioprótesis de pericardio bovino tratado con glutaraldehído en diafragma de perros* (tesis). México, DF: UNAM;1990.
14. Gallo JI, Artiñano E, Val F, Duran CG. *Glutaraldehyde-preserved heterologous pericardium for the repair of diaphragmatic defects: experimental study*. J Thorac Cardiovasc Surg 1982;83:905-908.
15. Boin I de F, Joaquim JL, Leonardi LS. *Glutaraldehyde-preserved bovine pericardium for the repair of dia-phragmatic defects due to extensive metastatic liver resection*. Hepatogastroenterology 2003;50:839-840.
16. Jasso-Victoria R, Olmos-Zúñiga JR, Arreola-Ramírez JL, Sotres-Vega A, Vanda-Cantón B, Santillán-Doherty P. *Reconstrucción del esternón con pericardio bovino tratado con glutaraldehído (PBTG). Estudio experimental*. Rev Inst Nal Enf Resp Méx. 1995;8:189-191.

17. Olmos-Zúñiga JR, Jasso-Victoria R, Sotres-Vega A, et al. *Evaluación de la utilidad del pericardio bovino en resecciones pulmonares no anatómicas en perros*. Rev Invest Clin 2002;54:334-341.
18. Binet JP, Planche C, Weiss M. *Heterograft replacement of the aortic valve*. In: Ionescu MI, Ross DN, Wooler GH, editors. *Biological tissue in heart valve replacement*. London: Butterworths; 1972.p.515-541.
19. Carpentier A, Lemaigre G, Robert L, Carpentier S, Dubost C. *Biological factors affecting long-term results of valvular heterografts*. J Thorac Cardiovasc Surg 1969;58:467-483.
20. Carpentier A, Deloche A, Relland J, et al. *Six-year follow-up of glutaraldehyde-preserved heterografts. With particular reference to the treatment of congenital valve malformations*. J Thorac Cardiovasc Surg 1974;68:771-782.
21. Schoen FJ, Hobson CE. *Anatomic analysis of removed prosthetic heart valves: causes of failure of 33 mechanical valves and 58 bioprostheses, 1980 to 1983*. Hum Pathol 1985;16:549-559.
22. Schoen FJ, Titus JL, Lawrie GM. *Autopsy-determined causes of death after cardiac valve replacement*. JAMA 1983;249:899-902.
23. Roberts WC. *Factors determining outcome of cardiac valve replacement*. Ann Thorac Surg 1979;27:101-103.
24. Schoen FJ, Fernandez J, Gonzalez-Lavin L, Cernaianu A. *Causes of failure and pathological findings in surgically removed Ionescu-Shiley standard bovine pericardial heart valve bioprostheses: emphasis on progressive structural deterioration*. Circulation 1987;76:618-627.
25. Schoen FJ, Levy RJ. *Bioprosthetic heart valve failure: pathology and pathogenesis*. Cardiol Clin 1984;2:717-739.
26. Schoen FJ, Tsao JW, Levy RJ. *Calcification of bovine pericardium used in cardiac valve bioprostheses. Implications for the mechanisms of bioprosthetic tissue mineralization*. Am J Pathol 1986;123:134-145.
27. Fischbein MC, Levy RJ, Ferrans VJ, et al. *Calcifications of cardiac valve bioprostheses. Biochemical, histologic, and ultrastructural observations in subcutaneous implantation model system*. J Thorac Cardiovasc Surg 1982;83:602-609.
28. Ferrans VJ, Boyce SW, Billingham ME, Jones M, Ishihara T, Roberts WC. *Calcific deposits in porcine bioprostheses: structure and pathogenesis*. Am J Cardiol 1980;46:721-734.
29. Valente M, Bortolotti U, Thiene G. *Ultrastructural substrates of dystrophic calcification in porcine bioprosthetic valve failure*. Am J Pathol 1985;119:12-21.
30. Schoen FJ, Levy RJ, Nelson AC, Bernhard WF, Nashef A, Hawley M. *Onset and progression of experimental bioprosthetic heart-valve calcification*. Lab Invest 1985;52:523-532.
31. Harasaki H, McMahon J, Richards T, Goldcamp J, Kiraly R, Nose Y. *Calcification in cardiovascular implants: degraded cell-related phenomena*. Trans Am Soc Artif Intern Organs 1985;31:489-494.
32. Levy RJ, Schoen FJ, Flowers WB, Staelin ST. *Initiation of mineralization in bioprosthetic heart valve: studies of alkaline phosphatase activity and its inhibition by AlCl₃ or FeCl₃ pre-incubations*. J Biomed Mater Res 1991;25:905-935.
33. Maranto AR, Schoen FJ. *Alkaline phosphatase activity of glutaraldehyde-treated bovine pericardium used in bioprosthetic cardiac valve*. Circ Res 1988;63:844-848.
34. Levy RJ, Schoen FJ, Golomb G. *Bioprosthetic heart valve calcification: clinical features, pathobiology and prospects for prevention*. CRC Crit Rev Biocompat 1986;2:147-187.
35. Fishbein MC, Levy RJ, Ferrans VJ, et al. *Calcification of cardiac valve bioprostheses. Biochemical, histologic, and ultrastructural observations in a subcutaneous implantation model system*. J Thorac Cardiovasc Surg 1982;83:602-609.
36. Levy RJ, Schoen FJ, Levy JT, Nelson AC, Howard SL, Oshry LJ. *Biologic determinants of dystrophic calcification and osteocalcin deposition in glutaraldehyde-preserved porcine aortic valve leaflets implanted subcutaneously in rats*. Am J Pathol 1983;113:143-155.
37. Golomb G, Schoen FJ, Smith MS, Linden J, Dixon M, Levy RJ. *The role of glutaraldehyde-induced cross-links in calcification of bovine pericardium used in cardiac valve bioprostheses*. Am J Pathol 1987;127:122-130.
38. Vasudev SC, Chandy T, Umasankar MM, Sharma CP. *Inhibition of bioprosthetic calcification due to synergistic effect of Fe/Mg ions to polyethylene glycol grafted bovine pericardium*. J Biomater Appl 2001;16:93-107.
39. Golomb G. *Controlled release of diphosphonates from synthetic polymers to inhibit calcification*. J Biomater Appl 1987;2:266-289.
40. Chandy T, Mohanty M, John A, et al. *Structural studies on bovine bioprosthetic tissues and their in vivo calcification: prevention via drug delivery*. Biomaterials 1996;17:577-585.
41. Webb CL, Schoen FJ, Flowers WE, Alfrey AC, Horton C, Levy RJ. *Inhibition of mineralization of glutaraldehyde-pretreated bovine pericardium by AlCl₃. Mechanisms and comparisons with FeCl₃, LaCl₃ and Ga(NO₃)₃ in rat subdermal model studies*. Am J Pathol 1991;138:971-981.
42. Fitzgibbons RJ Jr, Greenburg AG, Nyhus LM. *Nyhus and condon's hernia*. 5th ed. Philadelphia, USA: Lippincott and Wilkins; 1989.
43. Schwartz SI, Ellis H. *Maingot's abdominal operations*. 9th ed. Norwalk, Connecticut, USA: Appleton & Lange; 1989.
44. Skandalakis JE, Gray DW, Mansberger AR, et al. *Hernia: surgical anatomy and technique*. Singapore: McGraw-Hill; 1989.
45. Sher W, Pollack D, Paulides CA, Matsumoto T. *Repair of abdominal wall defects: Gore-Tex vs Marlex graft*. Am Surg 1980;46:618-623.
46. Arreola-Ramírez JL. *Utilización del pericardio bovino como sustituto de tráquea* (tesis). México, DF: UNAM;1990.

Correspondencia:

Dr. J. Alfredo Santibáñez Salgado.
Departamento de Cirugía Experimental,
Unidad de Investigación.
Instituto Nacional de Enfermedades
Respiratorias. Calzada de Tlalpan 4502,
colonia Sección XVI. México, DF.,
14080. Teléfono: (52) (55) 56664539,
extensión 180.
e-mail: alf36@hotmail.com