

## Válvula de duramadre. Estudio clínico-quirúrgico y anatomopatológico. (Microscopía óptica y electrónica de transmisión y barrido)

JOSE MILEI  
NARCISO BOLOMO  
RUBEN A. STORINO  
Sección Patología  
y Departamento de Cardiología,  
Instituto de Cardiología,  
Fundación Hermenegilda Pombo  
de Rodríguez,  
Academia Nacional de Medicina,  
Buenos Aires.

*Se estudiaron 20 pacientes portadores de prótesis valvulares de duramadre, según datos clínicos, estudios complementarios (incruentos y cruentos) y anatomopatológicos (microscopía óptica y electrónica de transmisión y barrido). Las edades variaron entre 19 y 64 años ( $\bar{x}$  43,7 DS  $\pm$  11,3), 12 pertenecían al sexo masculino y 8 al sexo femenino. Las prótesis fueron obtenidas en actos quirúrgicos o necropsias después de haber estado implantadas durante un lapso de dos días a cuatro años. Según nuestros resultados se pueden diferenciar dos grupos bien definidos de pacientes: a) pacientes fallecidos en el postoperatorio inmediato con menos de 48 horas de colocación de la prótesis (N: 14; Mitral: 5; aórticos: 9), en quienes se encuentra que las mismas son relativamente normales, con complicaciones tromboticas sólo microscópicas, siendo las causas de muerte, en estos enfermos, de origen miocárdico; b) pacientes fallecidos o que necesitaron recambio valvular, con más de dos meses de colocación de la prótesis de duramadre (N: 6; mitral: 2; aórticos: 4), en los que se encuentran perforaciones, fisuras, desprendimientos de cúspides y/o calcificación-trombosis y cuyas causas de muerte están vinculadas al progresivo deterioro ocasionado por las disfunciones valvulares protésicas. El mal funcionamiento protésico se evidencia en la mayoría de estos casos antes de los seis meses de implantadas (signos clínicos y estudios complementarios). Sin embargo, el recambio se realizó alrededor de los tres años, teniendo entonces los pacientes un franco deterioro general y cardiovascular que aumentaron por consiguiente los riesgos de la reoperación. Tenemos la siguiente hipótesis sobre la fisiopatogenia de la producción de calcificación y trombosis secundaria en las válvulas de duramadre: las células de la sangre y el material plasmático penetrarían en las paredes de la prótesis a través de los canales linfáticos de los espacios lacunares del tejido conectivo y de las luces vasculares rígidas, provocando degeneración colágena y calcificación parietal focal. Esta induciría a la fragmentación de las capas llevando a la trombosis, perforación y calcificación. Esta última provocaría, al aumentar la rigidez parietal, un aumento del stress mecánico que cerraría así un círculo fisiopatogénico. Respecto de la calcificación que ocurre tardíamente, ésta puede ser dividida en cuanto a su fisiopatogenia en: a) calcificaciones del colágeno y b) calcificaciones del material trombotico. En cuatro pacientes con diagnóstico clínico e intraoperatorio de endocarditis infecciosa protésica el estudio anatomopatológico no halló evidencias de la misma. Por lo tanto, a pesar de que se considera a las prótesis de duramadre como materiales inertes desde el punto de*

*Dirección postal:*  
Instituto de Cardiología  
Fundación Hermenegilda Pombo  
de Rodríguez  
Academia Nacional de Medicina  
Coronel Días 2423  
(1425) Capital Federal  
Argentina

*vista inmunológico, se deberá descartar el síndrome de rechazo en los casos en que se sospechen endocarditis protésicas. Los métodos de selección del material, fabricación y control de calidad de las válvulas de duramadre deberán ser mejorados, a fin de evitar las complicaciones detalladas en este trabajo.*

Durante los últimos diez años se han utilizado varios tipos de prótesis valvulares biológicas: 1) homoinjertos frescos y tratados con antibióticos; 2) válvulas de fascia lata autóloga; 3) válvulas de duramadre tratadas con glicerol; 4) válvulas de pericardio tratadas con glutaraldehído y 5) válvulas aórticas de porcino.

Se han efectuado estudios anatomopatológicos muy detallados que han mostrado que las alteraciones más importantes que se desarrollan en las válvulas protésicas porcinas aórticas son las estenosis, relacionadas con depósitos cálcicos y con la regurgitación causada por desgarros o perforaciones vinculadas con la fragmentación del tejido conectivo de las cúspides valvulares.<sup>1,2,3,4</sup>

No es sorprendente que se hayan encontrado alteraciones similares en otras prótesis biológicas dado que el colágeno es el mayor componente estructural de todas ellas. A pesar de ello, las características anatómicas, clínicas y hemodinámicas de las válvulas porcinas difieren en muchos aspectos de las otras prótesis biológicas y aún no ha sido determinado hasta qué punto las conclusiones obtenidas de los estudios de un tipo de válvulas protésicas biológicas puedan ser aplicadas a las demás. En lo que respecta a las prótesis de duramadre tratadas con glicerol, han sido muy utilizadas en muchos países de Latinoamérica y se les reconoce muy buena durabilidad y muy baja trombogenicidad. A pesar de que se han implantado miles de esas prótesis, sólo se tiene una información muy limitada sobre los cambios morfológicos que se desarrollan en estas válvulas luego de su implantación así como sobre los signos clínicos y hemodinámicos que se correlacionan con dichas alteraciones morfológicas.

En este trabajo se han estudiado las historias clínicas y se han realizado observaciones

morfológicas en veinte pacientes con prótesis valvulares biológicas obtenidas en actos quirúrgicos o necropsias, después de haber estado implantadas durante un lapso de dos días a cuatro años.

#### BREVE RESEÑA HISTORICA

Fueron C. A. Hufnagel y W. Harvey quienes, en 1952, colocaron la primera válvula cardíaca protésica.<sup>5</sup> Posteriormente, el gran desarrollo de la cirugía cardiovascular en las décadas del 50 y del 60 permitió un enfoque mucho más agresivo del diagnóstico y tratamiento de las enfermedades valvulares.

Como resultado de esto, se colocó gran cantidad de prótesis valvulares;<sup>6</sup> muchos de estos tratamientos beneficiaron a los pacientes pero algunos causaron morbilidad y muerte. Es así como un gran espectro de complicaciones se asoció con cada tipo de prótesis: dentro de éstas, las más importantes por su frecuencia fueron las trombosis locales de las válvulas protésicas. Esto llevó a una gran discusión internacional sobre la conveniencia de utilizar válvulas protésicas mecánicas, fáciles de adquirir y esterilizar, técnicamente simples de colocar y seguras mecánicamente pero con flujo lateral y consecuente tendencia a la trombosis local<sup>7</sup> o válvulas biológicas,<sup>8,9</sup> con poca incidencia de complicaciones tromboembólicas pero con mayor tendencia a la calcificación y a la fragmentación.

A comienzos de la década del 60 se realizaron las primeras experiencias con válvulas biológicas y fue a partir de 1967 en que su uso quedó incorporado en varios centros de todo el mundo. En enero de 1971, en el Instituto de Cardiología de San Pablo, Brasil, Zerbini inicia el ciclo de implantes de válvulas de duramadre.<sup>10</sup> El motivo por el cual Zerbini y colaboradores comenzaron a utilizar las prótesis de duramadre fue la alta incidencia de tromboembolismo y la ausencia de un control alejado de portadores de prótesis mecánicas. Los estudios histológicos realizados entonces en la duramadre mostraron que ésta tenía una elasticidad y resistencia mayor que la de la fascia lata.<sup>11</sup>

Desde ese entonces hasta la actualidad las prótesis de duramadre han sido utilizadas casi





Fig. 1A. Corazón abierto según la forma clásica en doble V. Vista del corazón izquierdo y de la válvula mitral.

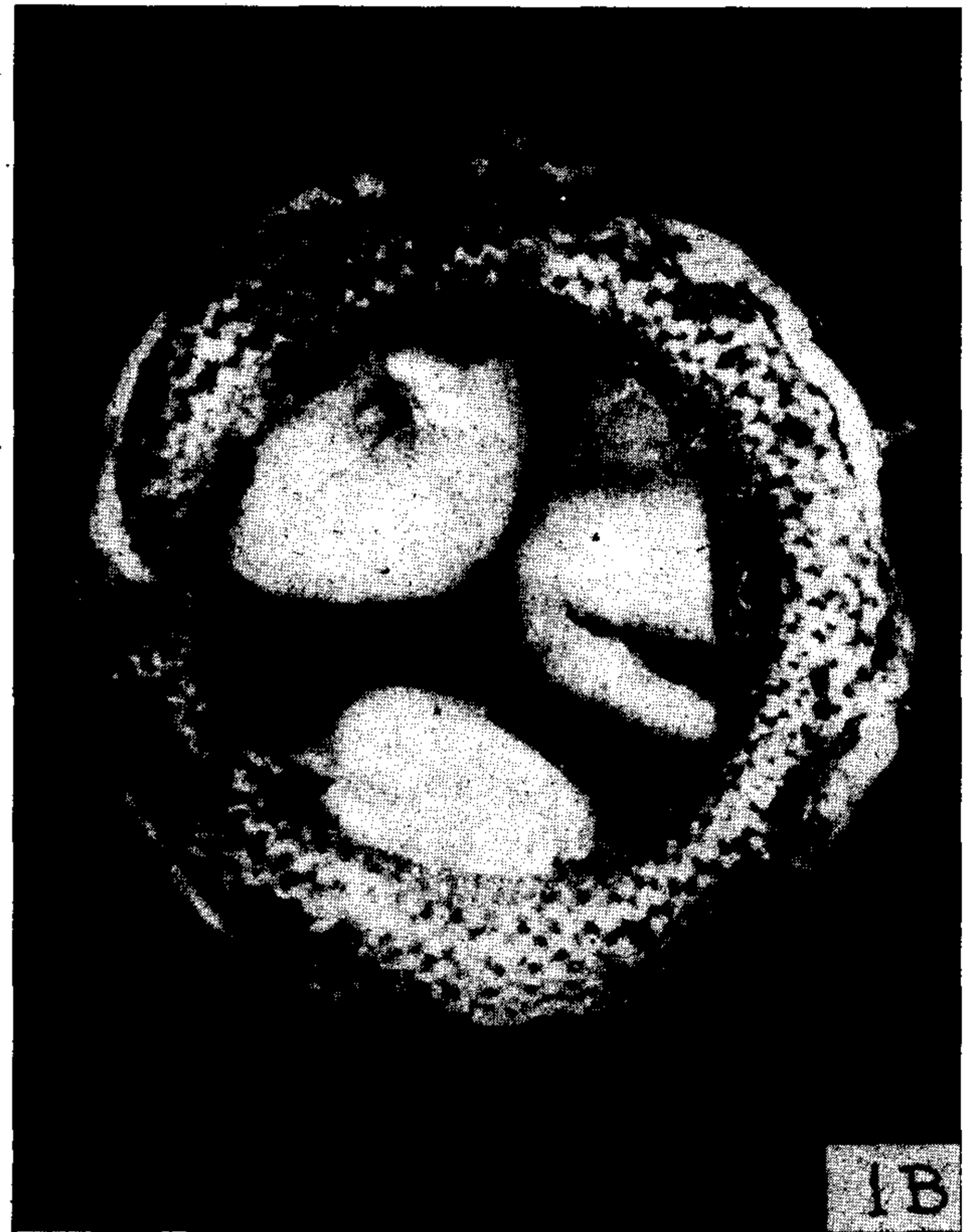


Fig. 1B. Prótesis valvular de duramadre (posición aórtica), aspecto ventricular. No se observan alteraciones macroscópicas. Paciente número 9.

con exclusividad en muchos centros, especialmente en Latinoamérica.<sup>12,13</sup> Los controles alejados no han sido completos y los estudios anatomopatológicos de las válvulas implantadas son escasos<sup>14</sup> y realizados sólo con microscopía óptica. Todo esto explica que la válvula de duramadre tenga detractores y defensores al no contarse con un conocimiento preciso de los cambios estructurales que se producen durante su funcionamiento. En la actualidad, se hacen esfuerzos en todo el mundo para llegar a obtener una válvula protésica ideal.

#### MATERIALES Y METODOS

Se estudiaron 17 pacientes portadores de prótesis valvulares de duramadre, fallecidos en el Departamento de Cirugía Cardiovascular del Sanatorio Güemes en el lapso comprendido entre el 1º de junio de 1975 y el 30 de noviembre de 1980, y tres pacientes de similares caracterís-

ticas, de los cuales uno fue necropsiado en el Hospital Instituto de Cardiología de la Academia Nacional de Medicina y otros dos recibieron recambio protésico entre el 1º de junio de 1979 y el 30 de noviembre de 1980 en dicho hospital.

Se tabularon todos los datos clínicos y los obtenidos de las respectivas necropsias y estudios biopsicos.

#### 1. Estudio clínico

Desde el punto de vista clínico, uno de los autores, sin conocer los datos patológicos, estudió y tabuló las historias clínicas de todos los pacientes. Estos se estudiaron por métodos no invasivos (electrocardiogramas, fonomecanocardiogramas, ecocardiogramas y pruebas de esfuerzo graduado) y desde el punto de vista invasivo (cateterismo cardíaco derecho e izquierdo con cineangiografía y coronariografía).

Se investigaron antecedentes de fiebre reumá-



tica y valvulopatías congénitas asociadas o no a otras malformaciones congénitas, stress y alteraciones metabólicas tales como diabetes, dislipemia y gota así como trastornos de la hemostasia.

## 2. Estudios necrópsicos y biópsicos

Ni bien obtenido el corazón (autopsia) o la pieza protésica reemplazada, se cortaron secciones longitudinales de las diferentes cúspides protésicas que se fijaron rápidamente en glutaraldehído para estudio de microscopía electrónica y de barrido (ver más abajo).

En cuanto al corazón, se investigó cuidadosamente su relación topográfica y la desembocadura y salida de los grandes vasos que fueron separados de las demás estructuras mediastínicas por secciones realizadas lo más distal posible al órgano (arterias y venas pulmonares y ambas venas cavas). Una vez aislado el corazón, las aurículas fueron abiertas siguiendo el curso de la sangre.

El corazón se pesó fijado en formol tamponado (pH 7,0) y libre de coágulos. Los ventrículos se cortaron en doble V siguiendo el esquema de apertura clásico. Se fotografiaron las cuatro válvulas cardíacas (Fig. 1A) así como el endocardio valvular, parietal y cordal.

Las arterias coronarias se seccionaron en forma seriada mediante cortes transversales cada 2 mm; se tomaron muestras para estudio histológico; toda vez que se comprobaron lesiones "críticas" y/o presencia de trombosis frescas se incluyeron para estudio histológico. En todos los casos en que se contó con estudio coronariográfico en vida del paciente se disecaron los grandes troncos coronarios y sus ramas, separándose del corazón, siendo incluidos en macro-tacos de 3 a 6 cm de largo, cortados longitudinalmente por macromicrótomos y coloreadas con H-E, tricrómico de Barbeito-López<sup>15</sup> y técnica para fibras elásticas.<sup>16</sup> De esta manera se obtuvo el control histológico total del árbol coronario en los pacientes con coronariografía previa. Sea que se hubieren efectuado cortes transversales, o sea que se hubiera hecho el estudio longitudinal, las lesiones "críticas" fueron medidas utilizando la relación de radio/espesor parietal de las arterias coronarias, siguiendo el

trabajo modificado de Pesonen y colaboradores.<sup>17</sup>

A fin de obtener datos de las lesiones miocárdicas se efectuaron cortes longitudinales del corazón incluyendo aurículas, aorta, válvulas cardíacas y ventrículos. Según los diferentes cortes, éstos comprendieron: corte A, aurícula derecha, válvula tricúspide, ventrículo derecho; corte B: aorta, válvula sigmoidea aórtica, septum interventricular izquierdo; corte C: aurícula izquierda, válvula mitral, ventrículo izquierdo.

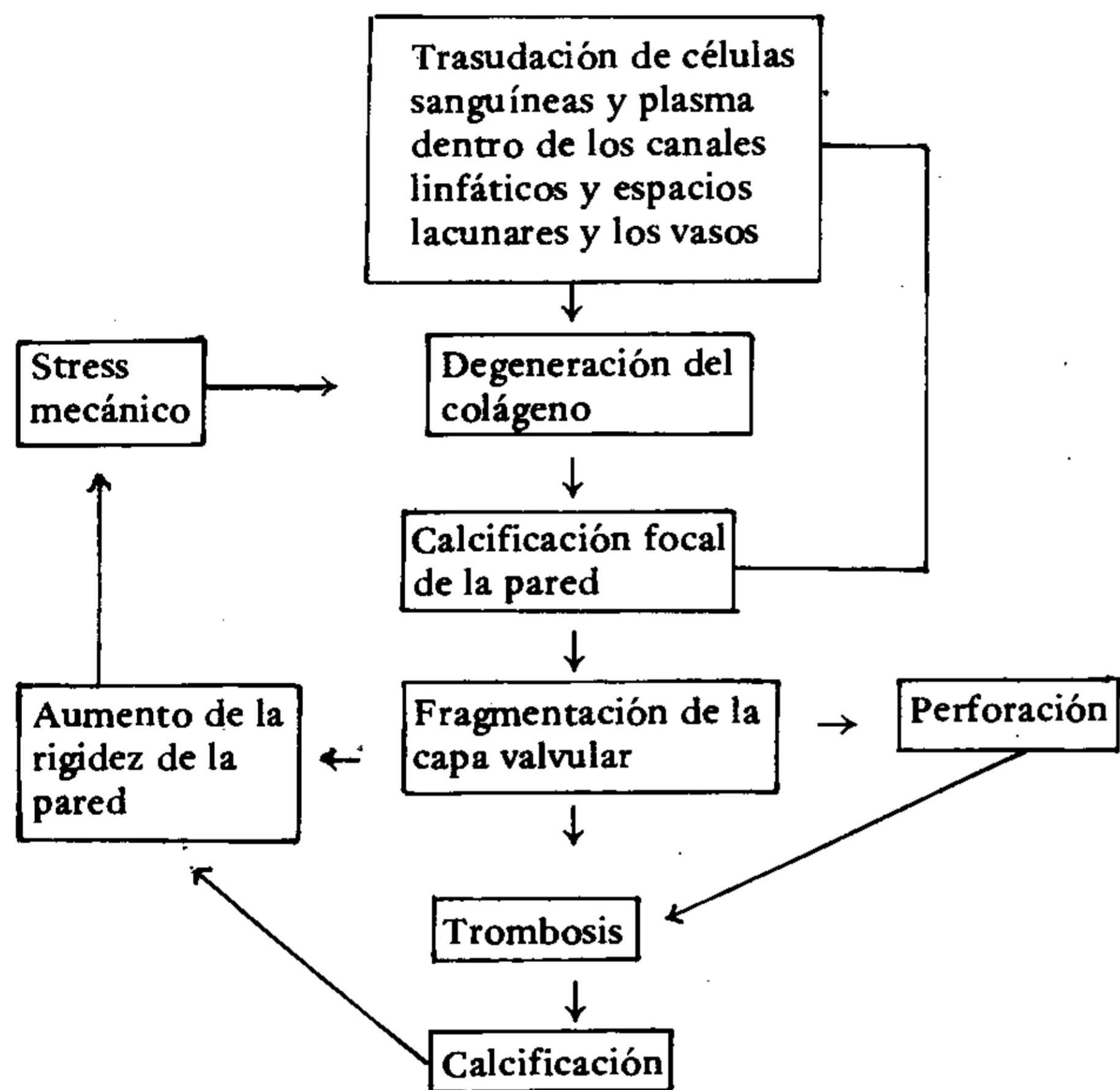
En cuanto a las válvulas protésicas, se fotografiaron *in situ* previa apertura de las paredes auriculares y ventriculares hasta el anillo valvular. Esto permitió estudiar su ubicación anatómica y la existencia o no de desproporción entre la válvula y la cámara en que se proyecta; así se pudo estudiar la presencia de trombos o vegetaciones protésicas, como dehiscencias, disfunción valvular y cambios endocárdicos tales como esclerosis subendocárdica. Subsecuentemente, la incisión se extendió al anillo valvular y las válvulas protésicas se separaron y se fotografiaron nuevamente por ambas caras (Fig. 1B). Se estudió el lecho valvular así como signos traumáticos a nivel de las paredes ventricular izquierda o aórticas.

Desde el punto de vista histológico, cada uno de los cortes detallados anteriormente así como las vegetaciones o trombosis implantadas en las prótesis valvulares y cortes longitudinales de las válvulas protésicas biológicas se incluyeron en parafina, se seccionaron y se colorearon con hematoxilina-eosina, P.A.S. tricrómico de Barbeito-López, técnica de Gram, técnica de la hematoxilina fosfotúngstica y pentacro de Movat. En el caso de sospecharse lesiones necrótico-isquémicas, las caras superiores de cada corte se fotografiaron y se calcularon a fin de obtener un esquema con las áreas totales de ambos ventrículos y las áreas totales del tejido lesionado. Esto se obtuvo midiendo esos esquemas con un planímetro polar, lo que permitió conocer el porcentaje de la masa ventricular comprometida.

Este estudio de los corazones de pacientes portadores de prótesis valvulares permitió obtener una serie de datos tales como: estado de las prótesis, estado de otras válvulas compro-

**Cuadro I**  
**Causas de falla de las prótesis biológicas (duramadre humana)**

- 1) Manufactura: deficiencia de las valvas.
- 2) Técnica quirúrgica: — suturas incorrectas;  
— brechas perivalvulares.
- 3) Del tejido y del stress mecánico:



metidas, lesiones miocárdicas concomitantes, grado y características de la estenosis coronaria, dehiscencias, trombosis, calcificaciones o endocarditis infecciosa protésica o periprotésica, infiltración bacteriana o micótica del miocardio, áreas necróticas y/o isquémicas, pericarditis y tromboembolismo.

Las secciones longitudinales de las cúspides protésicas de 1,5 mm de espesor obtenidas lo más rápidamente posible (autopsia o biopsia) se procesaron para microscopía electrónica de transmisión y de barrido. Las secciones formaban toda la cúspide desde la base al borde libre y se fijaron en glutaraldehído al 3% en fosfato tamponado, pH 7,2. Una vez fijados, se tomaron varias porciones de las cúspides que se secaron por el método del punto crítico, se cubrieron con paladium-oro y se examinaron con un microscopio de barrido a voltajes de 12 a 20 kw. Para microscopía electrónica se postfijaron otras porciones en tetróxido de osmio, se des-

hidrataron y se embebieron en maraglas. Las ultrasecciones se tiñeron con acetato de uranilo y citrato de plomo o de acuerdo con el método de Kajikawa y colaboradores para demostración de fibras elásticas.<sup>18</sup>

## RESULTADOS

### 1. Estudio clínico

Se constituyeron dos grupos de pacientes, según la muerte o el recambio valvular se produjera en las primeras 48 horas del postoperatorio o después de los dos meses de la operación (Tabla 1).

Antes de la intervención, los pacientes habían sido incluidos en los grados III o IV de la clasificación de la New York Heart Association.

Las edades variaron entre 19 y 64 años ( $\bar{x} \pm DS$ ;  $43,7 \pm 11,3$ ); 12 pertenecían al sexo masculino y 8 al sexo femenino. En la Tabla 2 se tabulan edad, sexo, válvula afectada, existencia previa de fiebre reumática, tiempo de colocación, el uso o no de anticoagulantes, la existencia de hipertensión pulmonar y la anatomía patológica de la prótesis y del corazón.

Dado el especial interés que revisten los pacientes que sufrieron disfunción protésica después de los dos meses de operación, resumimos en la Tabla 3 los principales datos clínico-quirúrgicos, y en la Tabla 4 el tiempo, causa, datos clínicos, y estudios complementarios, del mal funcionamiento protésico.

### 2. Estudio anatomopatológico

- 1) Pacientes con prótesis biológicas de duramadre, implantadas en posición mitral (n = 5) y aórtica (n = 9) y fallecidos antes de 48 horas.

**Tabla 1**  
**Válvulas protésicas de duramadre**

Posición mitral (n = 7)	}	Menos de 48 horas (n = 5)
		Más de 2 meses (n = 2)
Posición aórtica (n = 13)	}	Menos de 48 horas (n = 9)
		Más de 2 meses (n = 4)



Las válvulas protésicas de este grupo fueron normales desde el punto de vista macroscópico. Desde el punto de vista histológico, estas válvulas mostraron las dos capas bien definidas que existen en la duramadre normal (Fig. 2) (una externa o endostal y una interna o meníngea).

Repasaremos brevemente la histología y ultraestructura de la duramadre humana normal a fin de comprender mejor las alteraciones halladas en las prótesis implantadas.

La capa externa contiene grandes haces de fibras colágenas y forma dos tercios del espesor total de la duramadre. La mitad de ellas aparecen orientadas en la misma dirección, la otra mitad se orienta en todas direcciones. La capa interna es de menor espesor y tiene haces más pequeños de fibras colágenas. Ambas capas están estrechamente unidas en algunas áreas pero en otras están separadas por espacios de tamaño variable vacíos u ocupados por vasos sanguíneos o linfáticos (Fig. 2C).

Estudiada con el microscopio electrónico de barrido, las superficies de la duramadre humana muestran anillos en la superficie endosteal (Fig. 3A) con ondulación de las fibras de colágeno (Fig. 3B). En cambio, la superficie meníngea muestra un aspecto más suave (Fig. D) y en al-

gunas zonas presenta pequeñas interrupciones que dejan ver la presencia de haces de colágeno subyacentes (Fig. 3E). Desde el punto de vista de la microscopía electrónica de transmisión, la estructura de la duramadre humana muestra una típica disposición de fibras de colágeno tipo I.

Veamos ahora cuáles eran las alteraciones de las válvulas de duramadre implantadas durante menos de 48 horas. Los núcleos de las células del tejido normal estaban ausentes en las válvulas protésicas debido al proceso comercial de conservación (glicerol) previo a la implantación. En ambas superficies se observaron trombos microscópicos compuestos por fibrina y plaquetas.

La prótesis del paciente número 8 mostró zonas de acumulación de hematíes y múltiples áreas de microcalcificaciones. La M/E de transmisión de estas válvulas mostraron pequeños trombos implantados en las superficies y compuestos de hematíes, fibrina y plaquetas. Las fibrillas colágenas se presentaban levemente desorganizadas (Fig. 4A) y existían pequeños depósitos de un material finamente granular en los espacios interfibrilares (Fig. 4B y C). Raramente se observaron eritrocitos atrapados entre los haces colágenos en las cercanías de

Tabla 2  
Válvulas biológicas - Duramadre - Posición mitral. Menos de 48 horas

Caso Nº	Nombre	Edad	Sexo	FR	Complicación protésica	Tiempo de colocación válvula	Anti-coagulantes	Hipertensión pulmonar	Estado protésico	Patología del corazón y de otros órganos
1	NI	43	F	Sí	No	-48 hs.	No	Sí	Normal	Dilatación e hipertrofia ventricular izquierda. Areas de miocitólisis extensa.
2	CO	45	M	Sí	No	-48 hs.	No	No	Normal	Hipertrofia cardíaca global. Hemorragia subendocárdica. Miocitólisis coagulativa.
3	AI	50	M	Sí	No	-48 hs.	No	Ve. Cap.	Normal	Secuelas reumáticas. Fibrosis miocárdica. Esclerosis subendocárdica.
4	LO	40	F	Sí	No	-48 hs.	No	Cong. pasiva Ve. Cap.	Normal	Infiltrados polimorfocelulares múltiples. Hemorragias múltiples en subendocardio. Miocitólisis coagulativa.
5	KE	42	M	Sí	No	-48 hs.	No	Sí Hemorragias	Normal	Hipertrofia cardíaca. Infarto hemorrágico de pulmón.

Tabla 2 (continuación)

Válvulas biológicas - Duramadre - Posición aórtica. Menos de 48 horas

Caso No	Nombre	Edad	Sexo	FR	Complicación protésica	Tiempo de colocación válvula	Anti-coagulantes	Hipertensión pulmonar	Estado protésico	Patología del corazón y de otros órganos
6	BA	57	M	Sí	No	-48 hs.	No	Pasiva	Normal	Fibras onduladas. Miocitolisis alveolar subendocárdica. Arterio y arteriolonefroesclerosis. Congestión pasiva hepática. Pericarditis hemorrágica.
7	BO	51	F	Sí	No	-48 hs.	No	No	Normal	IAM 0-2 días. Isquemia subendocárdica extensa. Miocitolisis colicuativa.
8	RO	48	M	Sí	Sí	-48 hs.	No	Sí	Normal macrosc. Calcific. microsc.	Hemorragias nodo AV y rama izquierda del haz de His. Microcalcificación de la válvula protésica. Miocitolisis colicuativa y coagulativa (stone heart). Fibrosis subendocárdica.
9	AB	39	M	Sí	No	-48 hs.	No	Sí	Normal	Hemorragia nodo, tronco y rama izquierda. Estigmas reumáticos en v. tricúspide y miocardio. Miocitolisis coagulativa.
10	MA	50	M	Sí	No	-48 hs.	No	No	Normal	Necrosis hemorrágica circunferencial. "Stone heart".
11	NN	35	F	No	No	-48 hs.	No	Primitiva	Normal	Gran dilatación e hipertrofia ventricular derecha.
12	FL	49	M	Sí	No	-48 hs.	No	Sí	Normal	Aneurisma disecante aórtico. Hemorragia His. En cara lateral "fibras onduladas" y miocitolisis coagulativa.
13	VA	55	M	Sí	No	-48 hs.	No	Sí	Normal	Isquemia miocárdica. Invasión bacteriana. Miocarditis abscedada.
14	CA	51	M	No	No	-48 hs.	No	No	Normal	Hematoma disecante aórtico.

$\bar{x}$ : 48,3 - DS: 7,1

Válvulas biológicas - Duramadre - Posición mitral. Más de dos meses

Caso No	Nombre	Edad	Sexo	FR	Complicaciones protésicas	Tiempo de colocación válvula	Anti-coagulantes	Hipertensión pulmonar	Estado protésico	Patología del corazón y de otros órganos
15	RI	63	M	No	Sí	4 y 1/2 años	Sí	Sí	Calcificada y destruida	Se obtuvo durante el acto quirúrgico una prótesis groseramente calcificada. Se efectuó reemplazo valvular.
16	CI	30	F	Sí	Sí	3 y 1/2 años	No	Sí	Calcificada y fenestrada	Calcificación valvular. Pericarditis hemorrágica. Hemorragias subendocárdicas. Septum: "desarreglo muscular".

Tabla 2 (continuación)

## Válvulas biológicas - Duramadre - Posición aórtica. Más de dos meses

Caso Nº	Nombre	Edad	Sexo	FR	Complicaciones protésicas	Tiempo de colocación válvula	Anti-coagulantes	Hipertensión pulmonar	Estado protésico	Patología del corazón y de otros órganos
17	CO	20	F	No	Sí	2 años	No	Sí	Fisurada	Fibrosis subendocárdica marcada en VI. Aneurisma disecante de la aorta postraumático.
18	RO	25	M	Sí	Sí	4 años	No	Sí	Calcificada y fenestrada	Fibrosis perivascular. Infiltrado a células de Anitschkow. Fibrosis. Miocitolisis coagulativa. Necrosis coagulativa.
19	AN	29	F	Sí	Sí	4 años	No	No	Calcificada y perforada	Paciente en buena evolución postquirúrgica, actualmente válvula Starr-Edwards.
20	HE	52	F	No	Sí	3 años y 5 meses	No	No	Calcific. Desprendimiento una de las cúspides.	Paciente en buena evolución postquirúrgica.

Abreviaturas: VI: ventrículo izquierdo; FR: fiebre reumática; IAM: infarto agudo de miocardio; Ve. Cap.: vénulo-capilar.

$\bar{x}$ : 31,5 - DS: 14,1

las superficies de las cúspides. En lo que respecta al microscopio de barrido, éste mostró que ambas superficies valvulares eran lisas y cubiertas en algunas zonas por una fina capa de fibrina. Unidos a las capas más superficiales del colágeno se observaron trombos microscópicos formados por plaquetas, fibrina y eritrocitos (Fig. 5).

Los hallazgos patológicos más salientes del miocardio en los aórticos fueron: miocitolisis extensa subendocárdica (5 casos) y/o isquemia subendocárdica extensa (2 casos) y/o fibras onduladas (2 casos) y/o IAM (un caso) y/o hemorragias del nodo A-V y/o de las ramas del haz de His (3 casos) y/o necrosis hemorrágica circunferencial (un caso) y miocarditis abscedada (un caso). En cambio, en los reemplazos mitrales, el miocardio presentaba hipertrofia ventricular izquierda (4 casos), miocitolisis extensa subendocárdica (3 casos), hemorragia subendocárdica (un caso) y esclerosis subendocárdica (un caso).

- 2) Pacientes con prótesis biológica de duramadre, implantadas en posición mitral (n = 2) y fallecidos después de dos meses.

El caso 15 se trataba de una válvula protésica

groseramente calcificada (Fig. 6A y B) obtenida durante el acto quirúrgico en el que se efectuó recambio valvular luego de 36 meses de ser implantada en su posición. Existían masas calcificadas procedentes a nivel del espesor valvular. Dos de las cúspides estaban perforadas; en una de ellas la perforación era pequeña mientras que en la otra comprendía prácticamente toda la superficie valvar.

Las lesiones histológicas eran muy marcadas. Las fibras colágenas habían perdido su ondulación normal y presentaban áreas de separación y rotura de los haces colágenos (Fig. 7A) con formación de pequeños espacios que contenían un material rico en mucopolisacáridos. En pleno espesor de las cúspides se observaron eritrocitos atrapados (Fig. 7B) y en la superficie ventricular y recubiertos parcialmente por una capa de células endoteliales, se observó una "vaina fibrosa" formada por fibras colágenas y elásticas, fibroblastos elongados y vasos de neoformación (Fig. 7C). Se hallaron también depósitos de fibrina entre las fibras colágenas y en la luz de los elementos vasculares, así como trombos microscópicos en las superficies valvulares asociados a depósitos cálcicos. Estos llegaban a ocupar todo



**Tabla 3**  
**Cuadro clínico-quirúrgico (a)**

Caso N°	Sexo	Edad	FR	Endo- cardi- tis	Enfemed. valvular previa	Síntomas	E. C. G.	Rx de tórax	Fono	Eco	Hemodinamia
15	M	63	No	Sí x2	Insuf. mitral	Disnea III-IV Ins. card. Edemas	S.A. izq. H.V. izq.	↑V. izq. Hipert. venocap.	R <sub>1</sub> ↓ R <sub>2</sub> P↑ SS mitral Rolido 1/3	—	W: (40) AP: 110/50(36) VD: 110/5-25 (Ins. mitr.) AD: 15 VI: 140/0-10 Ao: 140/95 (125)
16	F	31	Sí	Sí	Insuf. mitral	Disnea II-III	H.V. izq.	↑V. izq. Hipert. venocap.	R <sub>1</sub> ↓ R <sub>2</sub> P↑ SS mitral	—	Insuf. mitral grave Insuf. aórtica leve
17	F	20	No	No	Insuf. aórtica	Palpitac. Disnea prog. angor	H.V. izq.	↑V. izq. Ao desenroll.	R <sub>1</sub> N/R <sub>2</sub> N↓ SS aórtico SD aórtico	Ins. aórt. Aneurisma Ao ascend.	Insuf. aórtica grave Dilatación suprasigm. y disección
18	M	25	Sí	No	Estenosis aórtica	Palpitac. Disnea angor	H.V. izq. ↑A. izq. Isq. ant. lat.	↑V. izq. Dilatac. Ao ascend.	R <sub>2</sub> ↓ SS aórtico Clic Ao	—	Estenosis aórtica grave Aorta bicúspide Insuf. aórtica leve
19	F	29	Sí	Sí	Insuf. aórtica	Palpitac. Disnea Ins. card.	H.V. izq.	↑V. izq. Hipert. venocap.	R <sub>1</sub> ↓/R <sub>2</sub> ↓ SD Ao 4/6	Insuf. Ao. Vegetac.	Insuf. aórtica grave
20	F	52	No	No	Estenosis aórtica	Disnea Palpitac.	H.V. izq.				Estenosis aórtica grave

**Tabla 3**  
**Cuadro clínico-quirúrgico (b)**

Caso N°	Ca	Hallazgos quirúrgicos Estenosis o insuficiencia	Endocarditis	Tipo de prótesis	Anticoagulación
15	—	Insuficiencia	Sí	Duramadre M <sub>3</sub>	Sí
16	—	Insuficiencia	Sí	Duramadre	No
17	—	Insuficiencia	Sí	Duramadre A <sub>24</sub> Teflón Ao	No
18	Sí	Estenosis	—	Duramadre A <sub>11</sub>	No
19	—	Insuficiencia	Sí	Duramadre	No
20	Sí	Estenosis	No	Duramadre	No

**Tabla 4**  
**Disfunción protésica (a)**

Caso No	Tiempo	Causa			Síntomas	Clínica	E.C.G.	Rx de tórax
		Endocarditis	Rotura	Ca				
15	3 a 4 meses	Sí	Sí	Sí	Disnea progr. grado IV Ins. card. IV	Insuf. mitral grave	Fibrilación auric. B.I.R.D. Biventr. Ext.-Vent.	A. izq. ↑ V. izq. ↑ / V.D. ↑ Hipert. venocapilar
16	5 meses	—	Sí	Sí	Disnea progr. Ins. card.	Enf. mitral Ins. aórtica	V. izq. ↑	A. izq. ↑ / V. izq. ↑
17	18 meses	Sí	Sí	—	Disnea progr. Caquexia card.	Ins. aórtica protésica	V. izq. ↑	V. izq. ↑ Hipert. venocapil. pulm. ↑
18	44 meses	Sí	Sí	—	Disnea progr. Insuf. cardíaca	Enf. aórtica	A. izq. ↑ V. izq. ↑	V. izq. ↑ Hipert. venocapil. pulm. ↑
19	36 meses	Sí	Sí	—	Disnea progr. Insuf. cardíaca	Insuf. aórtica y estenosis aórtica	A. izq. ↑ V. izq. ↑	A. izq. ↑ / V. izq. ↑ Hipert. venocapilar ↑
20		No	Desprend. 1 cúspide	Sí				

**Tabla 4**  
**Disfunción protésica (b)**

Caso No	Fono	Eco	Hemodinamia	Cirugía	Recambio tipo de prótesis
15	Insuf. mitral Insuf. tricusp.	A. izq. V. izq. V.D. Dis sagital	AP 110 mmHg No se completó por falla hemodinámica grave	4 años y 1/2 1ª operación	Starr-Edwards M <sub>2</sub>
16	Enf. mitral Ins. aórt. severa	V. izq. A. izq. V.D.	Estenosis mitral protésica / Insuf. aórtica grave / Hipert. pulmonar	3 años y 1/2 1ª operación	Doble reemplazo mitro-aórtico Björk 25 21
17	Disfunción protésica	V. izq. Vegetación Ao. Fibrosis	Insuf. aórt. protésica Aneurisma disecante tipo II	Paro preoperatorio 2 años 1ª operación	
18	Disfunción protésica	—	—	Fallece antes de ser reoperado 4 años 1ª operación	
19	Enf. aórt. protésica / Predominio de estenosis	Vegetaciones prótesis Ao V. izq.	—	4 años de la 1ª operación	Starr-Edwards A <sub>9</sub>
20				3 años y 5 meses	



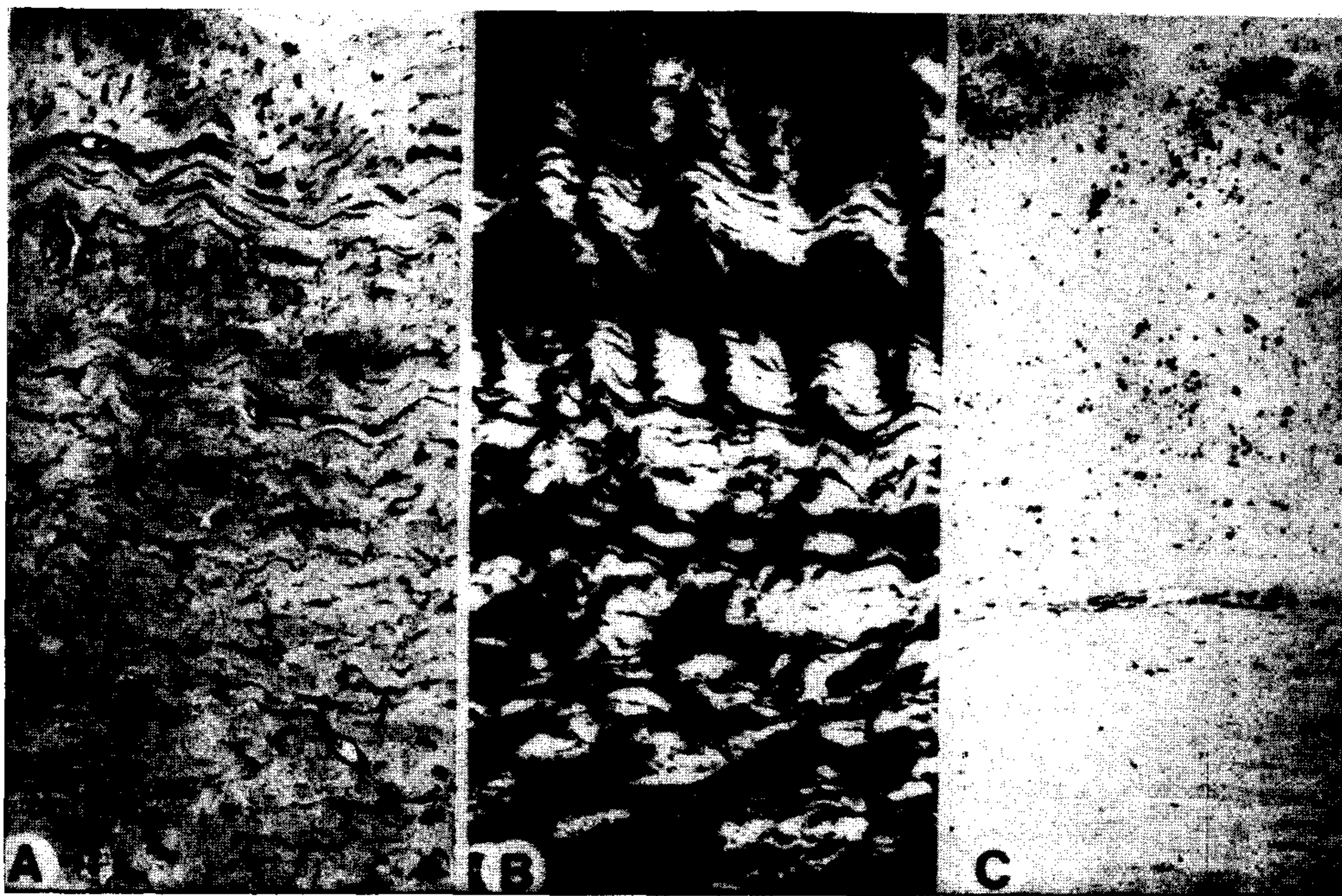


Fig. 2. Histología de la duramadre normal. A: Sección de duramadre de un niño de 7 años mostrando la cara meníngea en la parte superior y la endóstea en la inferior. El tejido conectivo y pequeños vasos aparecen entre haces de colágeno. Espesor de 1 micrón, incluida en plástico y teñida con azul de toluidina; 250 x. B: Igual que A pero con luz polarizada para mostrar la binefringencia y la ondulación del colágeno; 250 x. C: Sección de duramadre de un hombre de 56 años que muestra numerosos y diminutos nódulos oscuros de calcio diseminados en la cara interna (meníngea). Se observa un vaso sanguíneo en el límite entre las capas interna y externa. Coloración de Von Kossa; 250 x.

el espesor de la duramadre y erosionaban sus superficies (Fig. 7D). El microscopio de barrido mostró que las áreas no perforadas ni calcificadas eran lisas y sin lesión. La zona descrita como "vainas fibrosas" presentaba células endoteliales aplanadas y lisas (Fig. 8A y B). Algunos pocos eritrocitos, leucocitos, macrófagos y plaquetas se hallaron junto a las superficies protésicas. Se observó también fragmentación de las fibrillas colágenas, ya sea individualmente o formando parte de haces, tanto en áreas perforadas como no perforadas (Fig. 8E y F). Los nódulos calcificados eran de tamaño intermedio (Fig. 9A y B). Las perforaciones estaban adyacentes a las áreas de calcificación que incluso se proyectaban sobre los bordes de las mismas. Estos estaban formados por capas de fibras colágenas fragmentadas o erosionadas (Fig. 8E y F).

En cuanto a la microscopía de transmisión, se observaron diferentes grados de interrup-

ción e irregularidad de las fibras colágenas en la tinción con acetato de uranilo y citrato de plomo. Las áreas de interrupción de las fibras colágenas se evidenciaron por la presencia de grandes cantidades de un material granular, moderadamente denso electrónicamente, asociado con fibras colágenas "estriadas" y con gotas lipídicas electrónico-lucentes de 1.000 Å a 1 μ de diámetro (Fig. 9A, B y C).

Los depósitos cálcicos presentaron cuatro tipos diferentes de organización ultraestructural (Fig. 10A, B, C y D): a) cristales pequeños (60 a 150 Å de diámetro por 200 a 1.500 Å de largo), elongados y ubicados en los espacios interfibrilares, en la inmediata vecindad de las fibras colágenas (Fig. 10); b) depósitos cálcicos poco frecuentes ubicados sobre las fibras colágenas; c) masas grandes de cristales más pequeños (900 Å x 60 Å) sin ninguna relación con estructuras celulares o extracelulares y que constituían la parte más importante de las formaciones



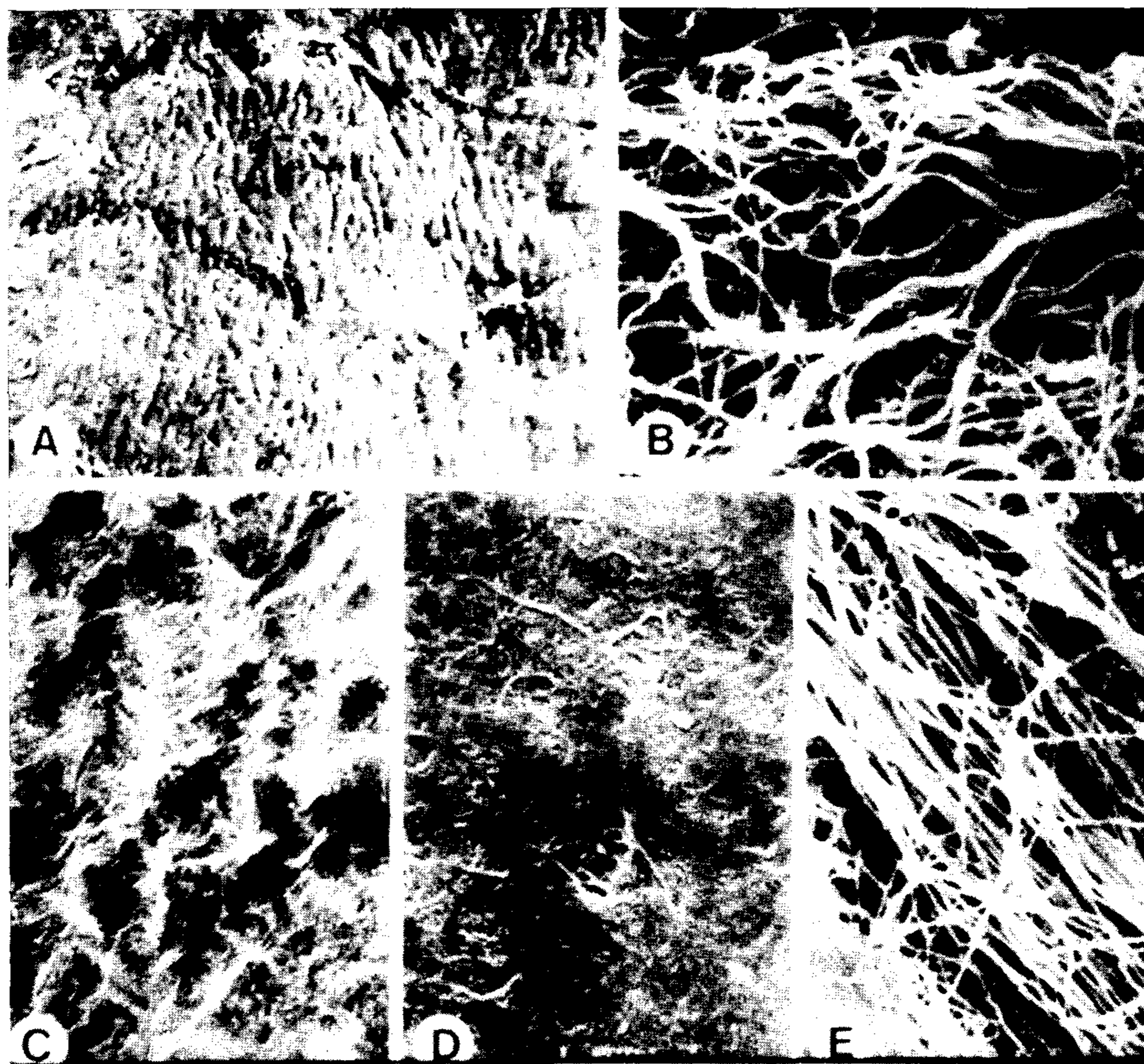


Fig. 3. Fotografías de microscopía electrónica de barrido de duramadre humana. A: A 90 x se observan anillos en la superficie endóstea. B: A 5.800 x la superficie de A muestra ondulación de las fibrillas de colágeno. C: A 100 x se observa la superficie más lisa de la cara meníngea. D: A 3.500 x la superficie meníngea continúa siendo más suave. E: A 6.000 x se observa una zona de la superficie meníngea con una pequeña interrupción demostrando a su través la presencia de haces de colágeno subyacentes.

cálcicas y d) depósitos cálcicos sobre fibroblastos.

La "vaina fibrosa" (Fig. 11 A y B) estaba compuesta por fibras elásticas y colágenas cubiertas por una capa única de células endoteliales. Las fibras elásticas medían 0,1 a 2,5  $\mu$  de espesor, mientras que las colágenas eran considerablemente menores que las de duramadre y medían entre 200 y 350  $\text{Å}$  de diámetro.

En el caso 16 se observaron groseras calcificaciones y fenestraciones valvulares que tomaban una de las cúspides, luego de 36 meses de colocación. Desde el punto de vista histológico, las alteraciones fueron semejantes al caso 15, salvo en la existencia de la "vaina fibrosa". Los depósitos cálcicos fueron los más graves de toda la serie, siendo más prominentes en las superficies ventriculares. En lo que hace a la micros-

copía electrónica de transmisión y barrido, las lesiones halladas fueron semejantes a las descritas para el caso 15 (Fig. 8 C y D; 12 A, B, C y D). El miocardio mostró hemorragias subendocárdicas y a nivel del tabique interventricular áreas de "desarreglo muscular" como se observan comúnmente en las miocardiopatías obstructivas asimétricas.

3) Pacientes con prótesis biológicas de duramadre, implantadas en posición aórtica y fallecidos después de dos meses (n=4).

En el caso 17 se observó en la autopsia una fisura de 1,5 cm a nivel de una de las valvas protésicas con bordes retraídos (Fig. 13 A y B) y con trombosis microscópicas a ese nivel. La válvula había sido colocada 24 meses antes, luego de insuficiencia aórtica y hematoma



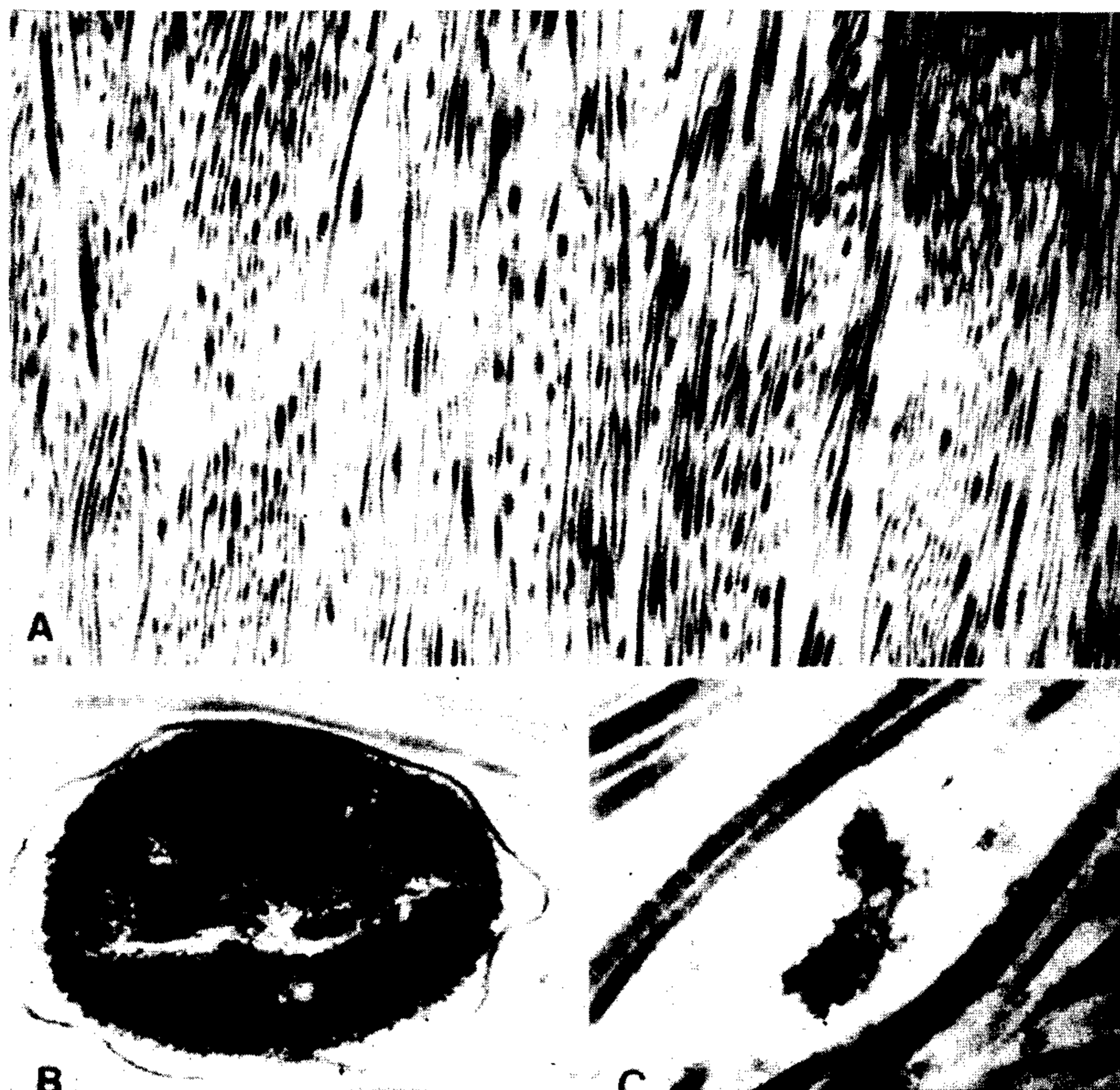


Fig. 4. Fotografías de microscopía electrónica de transmisión de duramadre humana teñida con acetato de uranilo y citrato de plomo. A: Sección mostrando la disposición en paralelo de las fibrillas colágenas que muestran sus típicas bandas y son de gran diámetro; 18.000 x. B: Los depósitos cálcicos del ejemplo mostrado en Fig. 2C están formados por numerosos pequeños cristales rodeados por una membrana limitante; 44.000 x. C: Igual que en B pero sin membrana limitante; 53.000 x.

disecante aórtico agudos postraumáticos. En el ventrículo izquierdo se observó llamativa esclerosis subendocárdica.

La válvula protésica no presentaba calcificación. Las lesiones halladas a nivel colágeno eran semejantes a las ya descritas. Una muy bien desarrollada "vaina de fibrina" cubierta por macrófagos recubría la superficie valvular y a nivel de los bordes de la fisura se observó tejido colágeno engrosado y fibrina. Estudiadas con microscopía de barrido, estas áreas eran lisas y cubiertas por un material que no ofrecía mayores detalles.

En el caso 18 se observó prótesis con marcada calcificación y deformaciones de las cúspides valvulares con perforación de una de las cúspides, asociada a depósitos cálcicos. La prótesis fue obtenida en la autopsia luego de 48 meses

de colocación. El miocardio mostró extensas áreas subendocárdicas de miocitolisis coagulativa y necrosis de coagulación, así como estigmas reumáticos.

Desde el punto de vista histológico y de microscopía electrónica, la válvula protésica presentó un aspecto similar al descrito para el caso 17, salvo en la presencia de la vaina de fibrina.

En el caso 19 se observó en la válvula protésica obtenida después de 48 meses de implantada, marcada calcificación y deformación valvular con perforación de una de las cúspides. Desde el punto de vista histológico y de microscopía electrónica, aparte de lo descrito en los casos anteriores (17 y 18) se observó tejido de granulación, trombos en organización y masas de tejido conectivo calcificado, relacionados con una endocarditis bacteriana protésica.



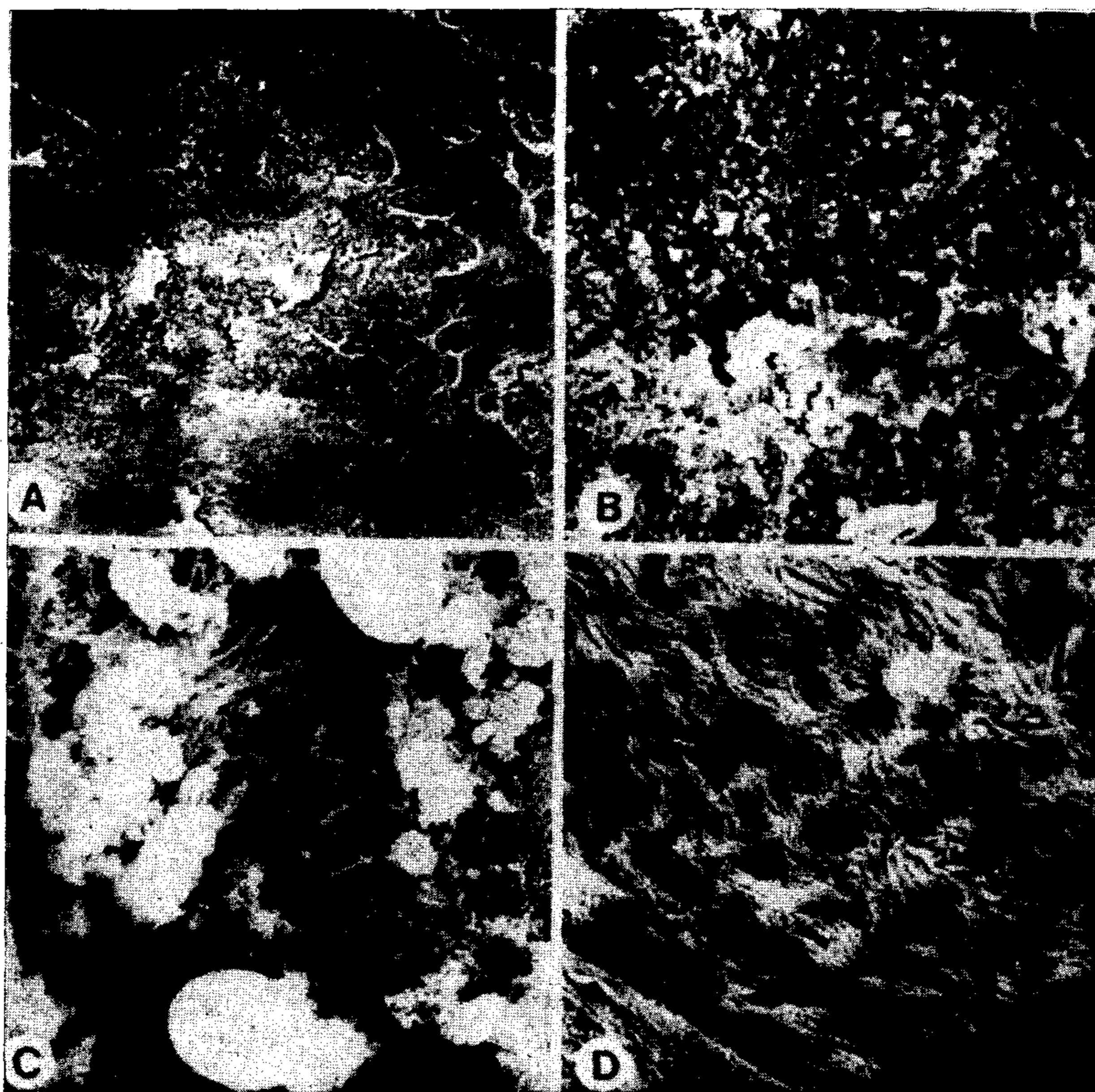


Fig. 5. Fotografía de microscopía electrónica de barrido de bioprótesis de duramadre implantadas durante dos días. A y B: Pequeños aumentos mostrando la superficie de entrada con trombos pequeños y planos y acúmulos de células sanguíneas. A: 40 x. B: 220 x. C: A 4.500 x se observa la superficie de salida cubierta parcialmente por eritrocitos, plaquetas y detritus amorfos. D: Corte transversal de la cúspide que muestra la ondulación de las fibras de colágeno. La superficie de salida se observa abajo y a la izquierda; 320 x.

En el caso 20 la válvula protésica se recuperó durante el acto quirúrgico después de 41 meses de implantación. Se observaron rigidez de las cúspides, múltiples calcificaciones y desprendimiento de una de las cúspides valvulares. Desde el punto de vista histológico y de microscopía electrónica se hallaron marcadas alteraciones del colágeno y extensos depósitos cálcicos semejantes a los casos 17 y 18.

### 3. Correlación clínico-anatomopatológica

1) Pacientes con prótesis biológicas de duramadre implantadas en posición mitral y/o aórtica y fallecidos antes de 48 horas.

Se trata de 14 pacientes de edades entre la ter-

cera y quinta décadas, con incapacidad de grados II a III (N.Y.H.A.), el 85,7% con antecedentes de fiebre reumática e hipertensión pulmonar, no anticoagulados, quienes no presentaron mayores alteraciones protésicas, salvo en un caso (microcalcificaciones focales —seguramente previas a su implantación— y atrapamiento de eritrocitos, microtrombosis de las superficies) cuya muerte se vinculó a lesiones miocárdicas isquémicas, hemorrágicas o miocitolíticas (vinculadas directamente con el acto quirúrgico) y/o miocardíticas (relacionadas con la enfermedad de fondo).

2) Pacientes con prótesis biológicas de duramadre en posición mitral y fallecidos después de dos meses.

En la Tabla 3 se detalla el cuadro clínico-



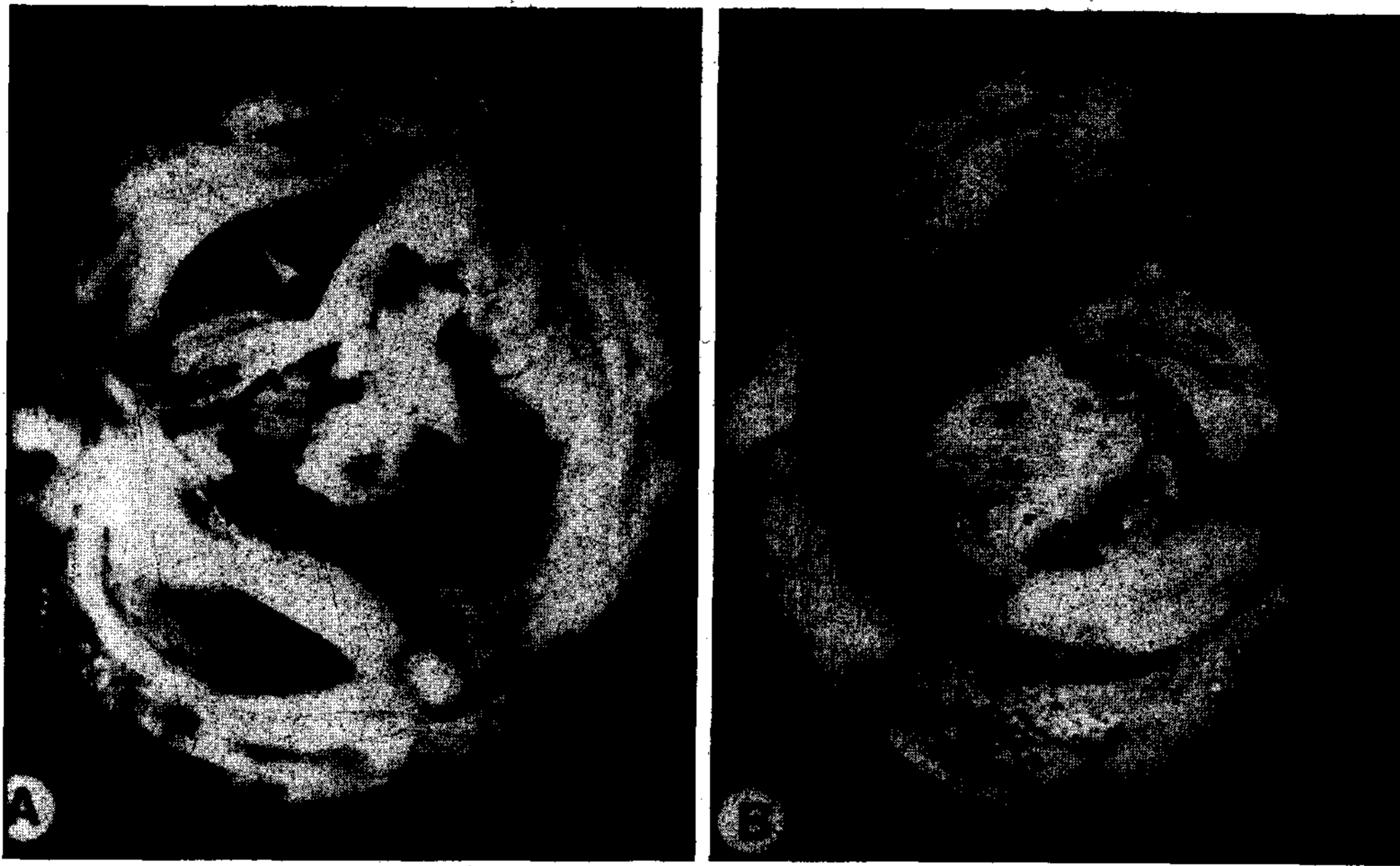


Fig. 6. Macroscopía de las superficies de salida (A) y entrada (B) de prótesis de duramadre calcificadas y perforadas del paciente 15. Se observan perforaciones en dos cúspides. En una de ellas la perforación es pequeña (flecha) mientras que en la otra afecta toda la superficie. Los nódulos irregulares en la superficie corresponden a depósitos de calcio.

quirúrgico de estos pacientes. Uno de ellos (caso 15) mostró signos y síntomas clásicos de la insuficiencia mitral tratada con prótesis de duramadre M<sub>3</sub>, anticoagulado (Tabla 4) y que comienza con disfunción valvular entre el tercero y cuarto mes postimplantación, mostrando nuevamente el cuadro de la insuficiencia mitral, por lo que debió ser reoperado a los cuatro años y medio.

La otra paciente (caso 16) presentaba insuficiencia mitral grave y aórtica leve, por lo que fue operada, reemplazándose su válvula mitral con una prótesis de duramadre; al quinto mes del reemplazo se comienzan a evidenciar los signos de disfunción protésica, por lo que se cambió luego de tres años y medio de implantación.

La disfunción protésica se detectó en ambos pacientes dentro del primer semestre postimplantación y los hallazgos anatomopatológicos fueron comunes: degeneración de las fibras colágenas, perforación y calcificación valvulares.

- 3) Pacientes con prótesis biológicas de duramadre, implantadas en posición aórtica por más de dos meses.

En estos pacientes, el promedio de colocación fue de 40 meses y el promedio de edad de 31,5 años, sustancialmente menor que en el primer grupo, y en ningún caso se efectuó anticoagulación. De las cuatro válvulas, tres estaban groseramente calcificadas y fenestradas (una de ellas tenía un desprendimiento de una de las cúspides) y la restante fisurada sin calcificación. Todas presentaron microtrombosis sobre las áreas calcificadas y en otras zonas relativamente conservadas. De tres casos de calcificación, sólo uno presentó antecedentes francos de fiebre reumática (caso 18). Las otras dos pacientes actualmente están asintomáticas, siendo portadoras de prótesis de Starr-Edwards.

Los signos de disfunción valvular se detectaron más tardíamente que en el grupo de pacientes con prótesis mitrales, alrededor del tercer año de implantación.

#### COMENTARIO

Como se desprende de nuestros resultados, se pueden diferenciar dos grupos bien definidos de pacientes:

- a) Pacientes fallecidos en postoperatorio in-



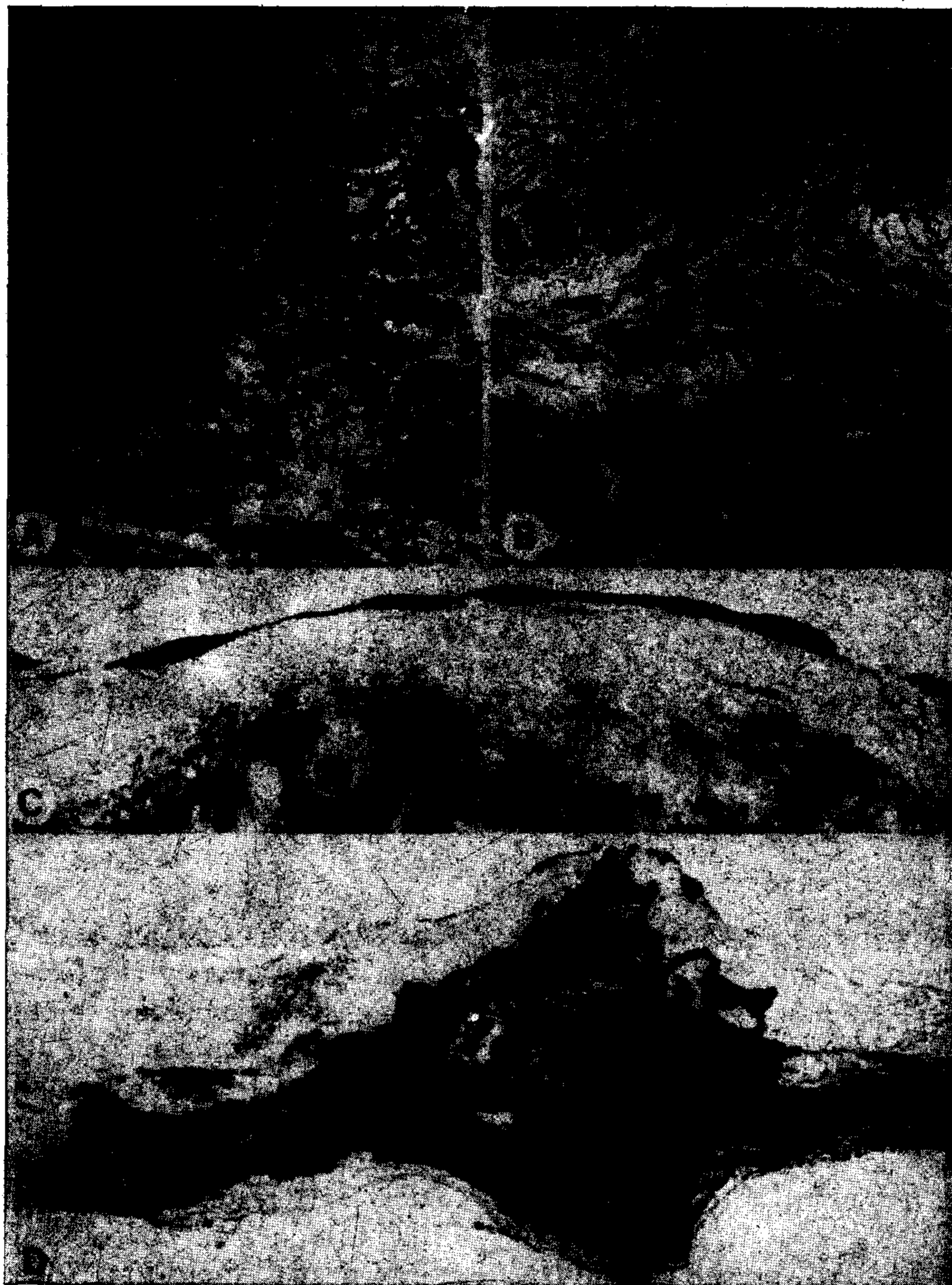


Fig. 7. Cambios histológicos en bioprótesis de duramadre implantadas. A: Se observa la degeneración colágena con interrupción y fragmentación de los haces de colágeno en el borde de un gran depósito de calcio (superficie negra en la zona inferior). Sección de micrón incluida en plástico, de la prótesis del paciente 15; H.E., 250 x. B: Acúmulo eritrocitario debajo de la superficie de la bioprótesis de duramadre del paciente 15 alrededor de depósitos de calcio. Coloración pentacromática de Movat; 250 x. C: Las células endoteliales tapizan la superficie de la hoja fibrosa sobre la cúspide de duramadre en la prótesis del paciente 15. Sección de 1 micrón incluida en plástico; coloración de azul de toluidina; 630 x. D: Vista panorámica mostrando un gran depósito de calcio (superficie negra) en bioprótesis del paciente 16. Coloración de Movat; 40 x.

mediato con menos de 48 horas de colocación de la prótesis, en quienes se encuentra que las mismas son relativamente normales, con complicaciones trombóticas sólo microscópicas, siendo las causas de muerte en estos enfermos de origen miocárdico.

b) Pacientes fallecidos luego de más de dos meses de colocación de la prótesis y en las que

se encuentran perforaciones, fisuras, desprendimiento de cúspides y/o calcificación-trombosis y cuyas causas de muerte están vinculadas con el progresivo deterioro por las disfunciones valvulares.

Esto cambia el concepto sobre seguridad y durabilidad de estas válvulas y nos permite efectuar una serie de consideraciones fisiopato-



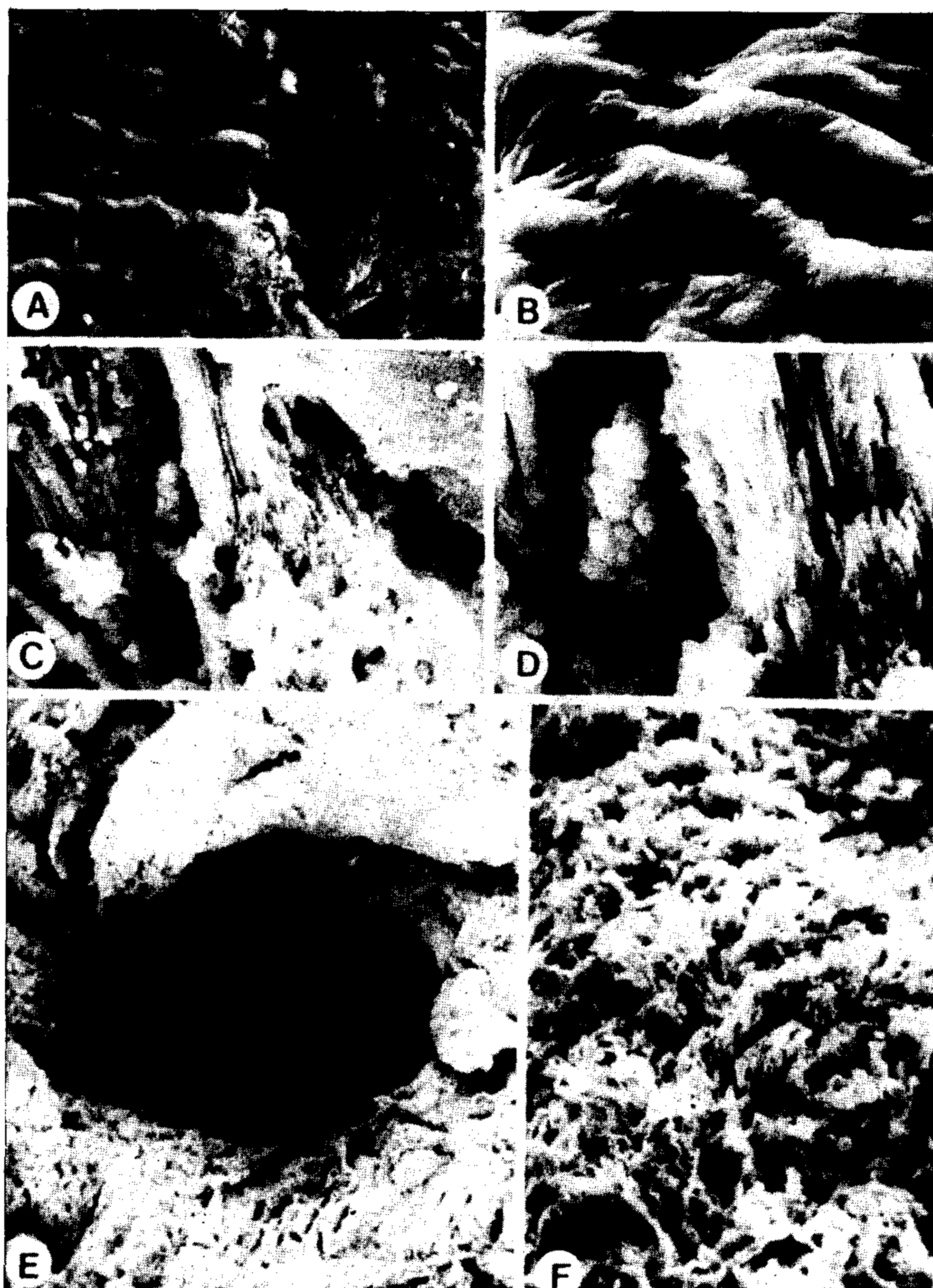


Fig. 8. Fotografías de microscopía electrónica de barrido de bioprótesis de duramadre implantadas más de un año. A: A 170 x se observa la apariencia irregular de la superficie de la hoja fibrosa que cubre la bioprótesis del paciente 15. B: A 1.600 x la superficie anterior muestra células endoteliales aplanadas y que forman una cubierta continua. Comparar con la histología (Fig. 7C) y la ultraestructura (Fig. 11). C y D: Dos vistas de los depósitos cálcicos y el colágeno fragmentado en la superficie de la bioprótesis del paciente 16. La superficie central en C (2.000 x) es mostrada en D; 6.300 x. E: A 50 x se observa erosión y delaminación del conectivo en los bordes en una pequeña perforación en bioprótesis del paciente 15. F: A 250 x se observa el colágeno fragmentado y erosionado en el borde de la perforación mostrada en E.

génicas sobre el mecanismo de degeneración colágena, calcificación y/o rotura protésica y proponer ciertas medidas simples que podrán mejorar la durabilidad y disminuir la incidencia de complicaciones.

Las prótesis biológicas han sido utilizadas ampliamente y con resultados satisfactorios durante períodos de ocho años o más. De todas maneras,

estudios recientes de la estructura anatomopatológica de las mismas han demostrado cambios estructurales después de diferentes lapsos de implantación y que sugieren degeneración de los componentes fibrosos de las cúspides valvulares.<sup>1,3,4,19</sup>

Solamente unas pocas bioprótesis de duramadre han sido recuperadas y sujetas a un minucio-



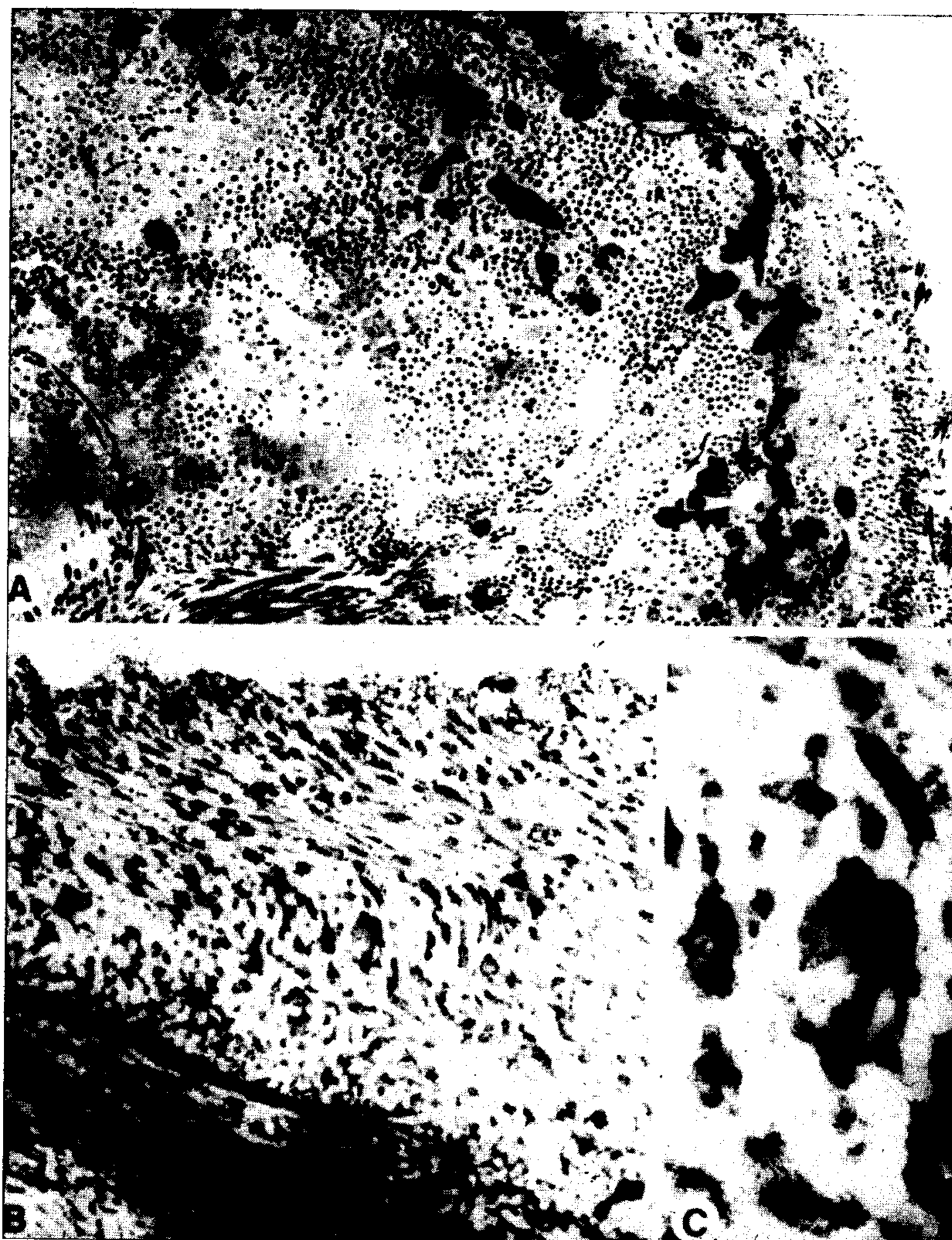


Fig. 9. Fotografías de microscopía electrónica de transmisión del tejido conectivo de la duramadre en la prótesis del paciente 15. A: La superficie de la bioprótesis muestra: fibras elásticas, teñidas de negro por el método de Kajikawa<sup>19</sup> y que son normales; fibrillas colágenas, la mayoría de las cuales han sido seccionadas transversalmente y depósitos de lípidos (L) y abundante material amorfo en los espacios interfibrilares; 13.000 x. B y C: El borde de la perforación muestra abundante material símil lípidos asociado a cristales electrónicamente densos y que presumimos representan sales de calcio. La estructura del conectivo está muy alterada y las fibrillas de colágeno normal no se evidencian. El centro de B se muestra en C a mayor aumento (B: 15.000 x; C: 45.000 x). Tinción con acetato de uranilo y citrato de plomo.

so estudio anatómopatológico.<sup>10,21</sup> Este ha revelado, como ya lo hemos consignado previamente, calcificaciones focales y rotura de las cúspides valvulares relacionadas con dehiscencias del tejido conectivo en zonas adyacentes a los puntos de anclaje de las valvas. Algunas de estas dehiscencias han sido atribuidas a imperfecciones en su construcción. Muchas de estas prótesis han sido construidas en pequeños laborato-

rios de los grupos de trabajo y las condiciones de control de calidad han sido variables en los distintos grupos. Además, las primeras bioprótesis utilizadas eran frecuentemente lugar de origen de infecciones bacterianas o micóticas en el postoperatorio inmediato, que fue amplia y rápidamente eliminado por el uso de antibióticos y antimicóticos en el proceso de fabricación de las mismas.



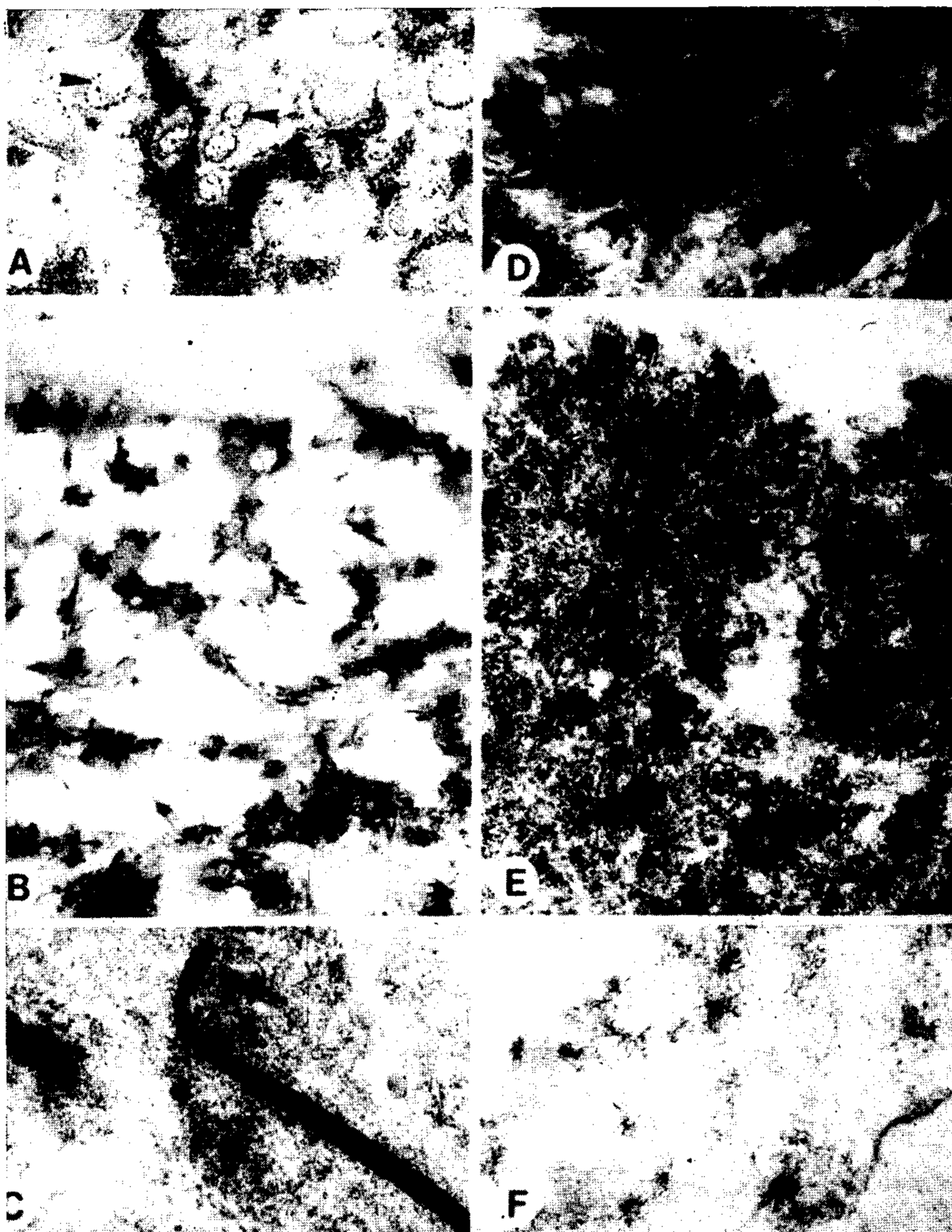


Fig. 10. Ultraestructura de depósitos cálcicos en prótesis de duramadre implantadas. Tinción con acetato de uranilo y citrato de plomo. A: Densidades puntiformes (flechas) sobre fibrillas colágenas; 71.000 x. B: Pequeños cristales ocupan los espacios interfibrilares sin afectar las fibrillas colágenas; 51.000 x. C y D: Depósitos cálcicos sobre fibrillas colágenas (C: 50.000 x; D: 52.000 x). E: Masa de pequeños cristales no asociada a otras estructuras. De todas formas, estos cristales semejan aquellos asociados al colágeno en D; 52.000 x. F: Depósitos cálcicos dentro del citoplasma de fibroblasto de duramadre; 47.000 x.

En los primeros informes de la morfología de las prótesis de duramadre no se demostraban alteraciones en el colágeno de las cúspides o éstas eran muy leves aunque sí aparecían depósitos cálcicos y roturas.<sup>14</sup> En un estudio efectuado en San Pablo por el grupo de E. de J. Zerbini sobre 1.593 pacientes con reemplazos valvulares sólo 13 pudieron ser incluidos en el examen anatomopatológico. Se hallaron siete roturas valvulares y dos calcificaciones focales después de un

postoperatorio que varió entre 37 y 75 meses.<sup>10</sup> Ultimamente, Martelli y colaboradores,<sup>22</sup> del National Heart Hospital, de Londres, en una experiencia con 120 pacientes con reemplazo valvular con bioprótesis de duramadre, hallaron degeneración colágena y desprendimiento de las cúspides en cinco de estas bioprótesis. La degeneración colágena se halló en cúspides no rotas, sugiriendo que éste es un proceso difuso. Surgen así detalles acerca de la calcifi-



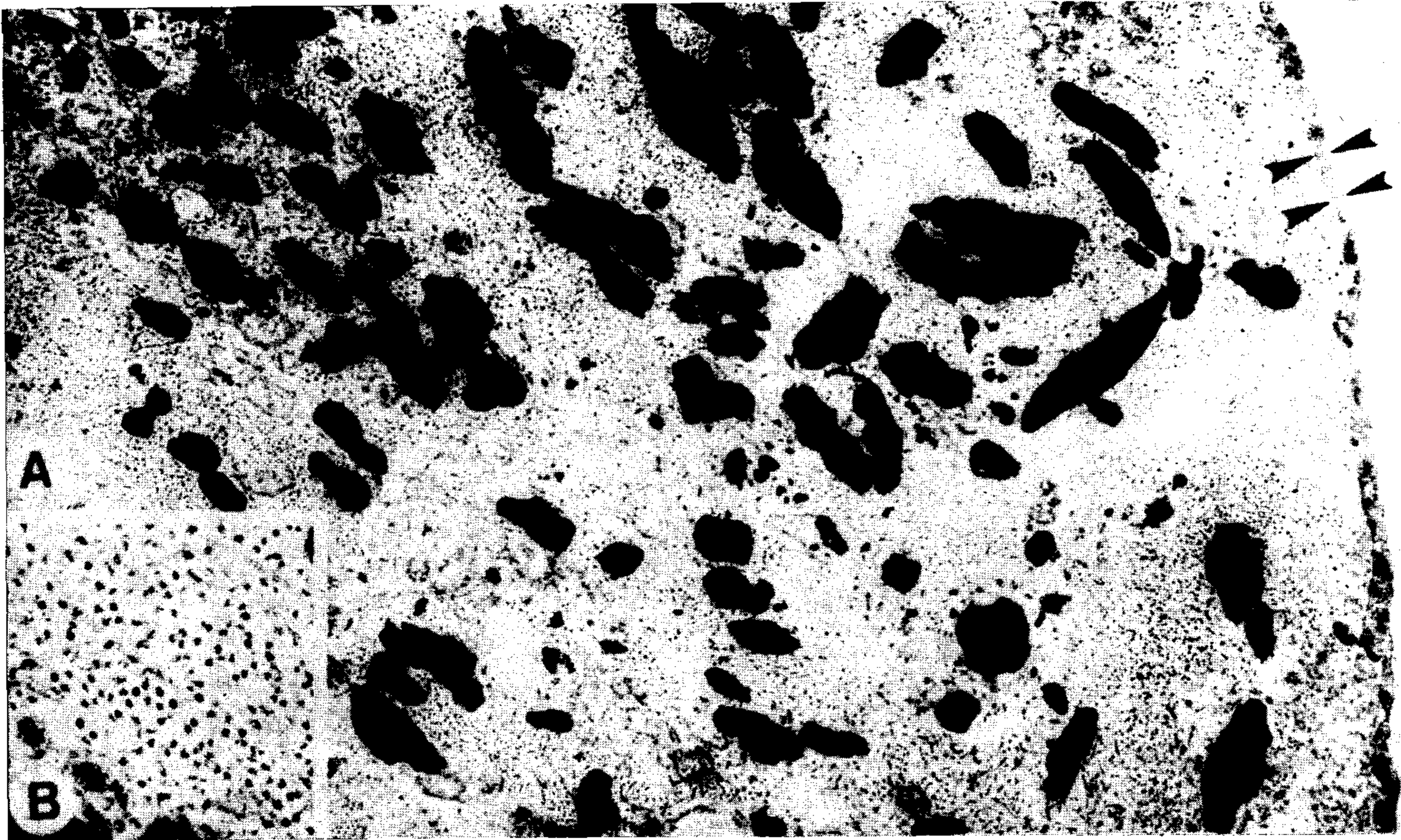


Fig. 11. A y B: La hoja fibrosa en bioprótesis del paciente 15 (comparar con Figs. 7C y 8B) está compuesta por fibras elásticas y pequeñas fibrillas colágenas. Estas fibrillas probablemente de colágeno III se ven ampliadas en B. Esta hoja fibrosa está cubierta por células endoteliales extremadamente finas y planas (flechas). Tinción de Kajikawa para tejido elástico.<sup>19</sup> (A; 15.000 x; B: 46.000 x).

cación y del daño del colágeno que sufren las bioprótesis de duramadre.

Aunque por el pequeño número de las válvulas estudiadas no se pueden extraer conclusiones estadísticas (se implantaron más de 700 bioprótesis), se define en nuestro trabajo la naturaleza precisa de los cambios que se presentan en las bioprótesis de duramadre en el postoperatorio alejado y que explican el mal funcionamiento de las mismas.

#### A) Trombogenicidad

La estructura de la duramadre humana normal difiere en varios aspectos de las válvulas porcinas aórticas y de las bovinas de pericardio parietal. La duramadre humana tiene dos capas; las mismas poseen principalmente fibrillas colágenas densamente unidas y son pobres en fibras elásticas y proteoglicanos. Esto es similar a la duramadre canina. Por el contrario, la válvula aórtica porcina tiene tres capas: 1) la ventricular (con colágeno y abundantes fibras elásticas

orientadas desde la base al borde libre); 2) la capa esponjosa rica en proteoglicanos y 3) la fibrosa rica en fibras colágenas paralelas al borde libre. Es en la capa esponjosa donde aparecen espacios libres después de la manufactura y que son ocupados por proteínas plasmáticas,<sup>3</sup> y por razones que no son claras ésta es la capa más frecuentemente afectada por depósitos cálcicos.<sup>23</sup>

La duramadre no tiene una capa de células de cubierta como el pericardio parietal<sup>24</sup> y la aórtica porcina.<sup>3</sup> En el proceso de manufactura, estas últimas pierden esta capa, lo que hace que las tres bioprótesis presenten en su superficie fibrillas de colágeno. Las superficies de la válvula de duramadre y la aórtica porcina son relativamente suaves y su textura comparable a las de salida de las válvulas de pericardio parietal;<sup>24</sup> las superficies de entrada de éstas son muy ásperas y sitio potencial de atrapamiento de fibrina y células sanguíneas.<sup>24,25</sup>

Es de hacer notar que las fibras colágenas de



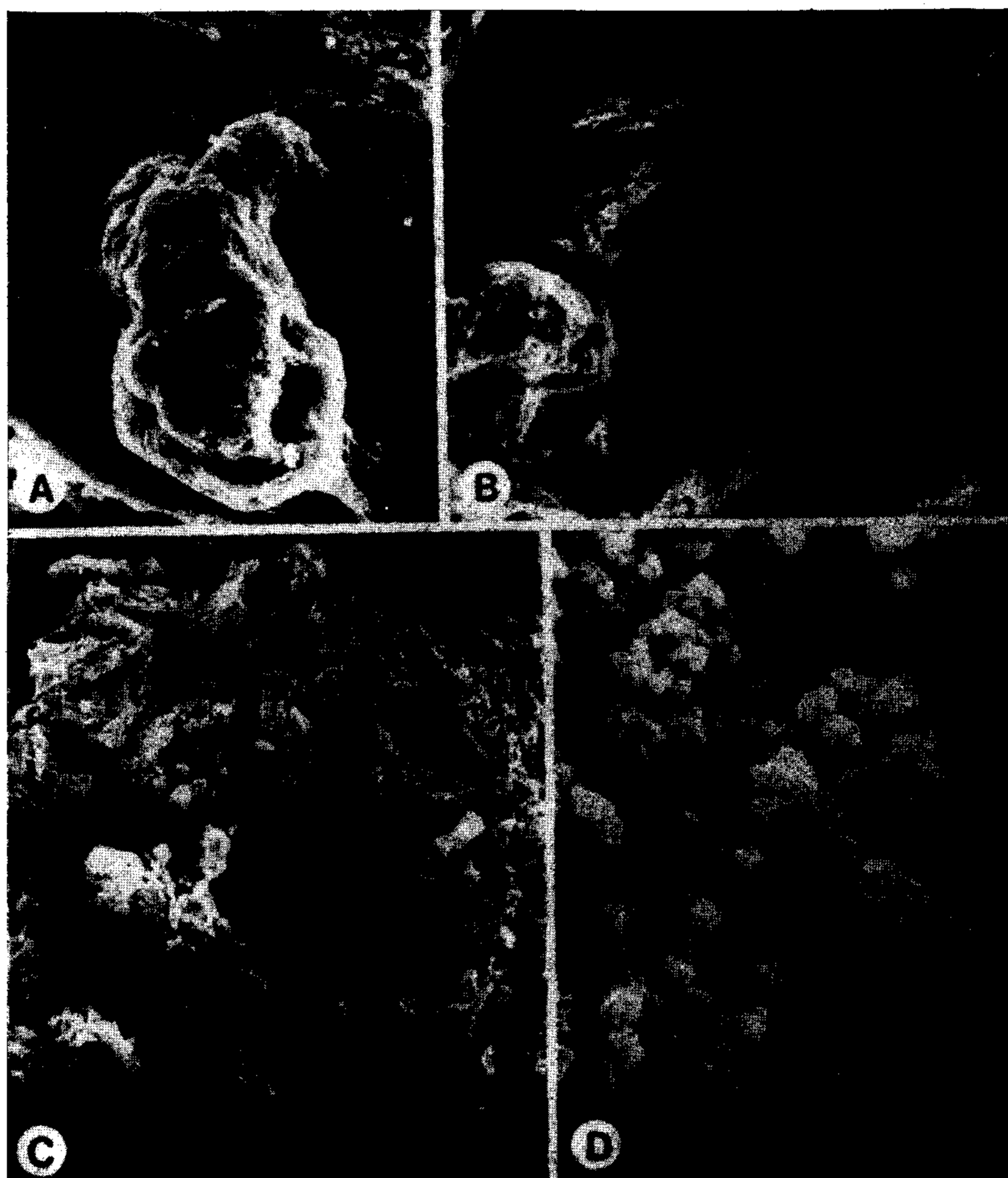


Fig. 12. Fotografías de microscopía electrónica de barrido en bioprótesis de duramadre implantadas con depósitos cálcicos. A: Depósito elevado de superficie relativamente suave y que se proyecta en el bolsillo valvular de la prótesis del paciente 16; 400 x. B: La perforación de la misma bioprótesis anterior está rodeada por depósitos cálcicos elevados; 50 x. C: A pequeño aumento, la superficie de salida de las cúspides de la bioprótesis del paciente 16 está formada por múltiples nódulos cálcicos; 30 x. D: A 4.600 x parte de C muestra que los nódulos cálcicos están formados por pequeños gránulos.

duramadre difieren en tamaño de las de las válvulas aórticas porcinas. Esta diferencia es importante y probablemente es índice de un diferente tipo bioquímico de colágeno. En la duramadre se encuentran fibras largas correspondientes a colágeno I. Las fibras pequeñas de válvulas porcinas<sup>3</sup> y las de las hojas del huésped que cubren las superficies de bioprótesis de duramadre y las porcinas en otros pacientes,<sup>26</sup> corresponden probablemente a colágeno III. Estas diferencias estructurales son muy importantes respecto del comportamiento de las diversas bioprótesis después de su implante.

Tenemos la impresión de que el número de plaquetas adheridas al colágeno en la superficie valvular es mucho mayor en las porcinas que en las de duramadre. Esto es similar a lo hallado para estos dos tipos de prótesis después de su implante en corazones artificiales implantados en ovejas<sup>27,28</sup> y está de acuerdo con la experiencia clínica que demuestra el menor número de accidentes tromboembólicos en los pacientes con prótesis de duramadre.<sup>10,29</sup> Resta por saber si estas diferencias se deben a los tipos de colágeno, a las proteínas asociadas, al tratamiento químico (glutaraldehído versus glicerol) usado

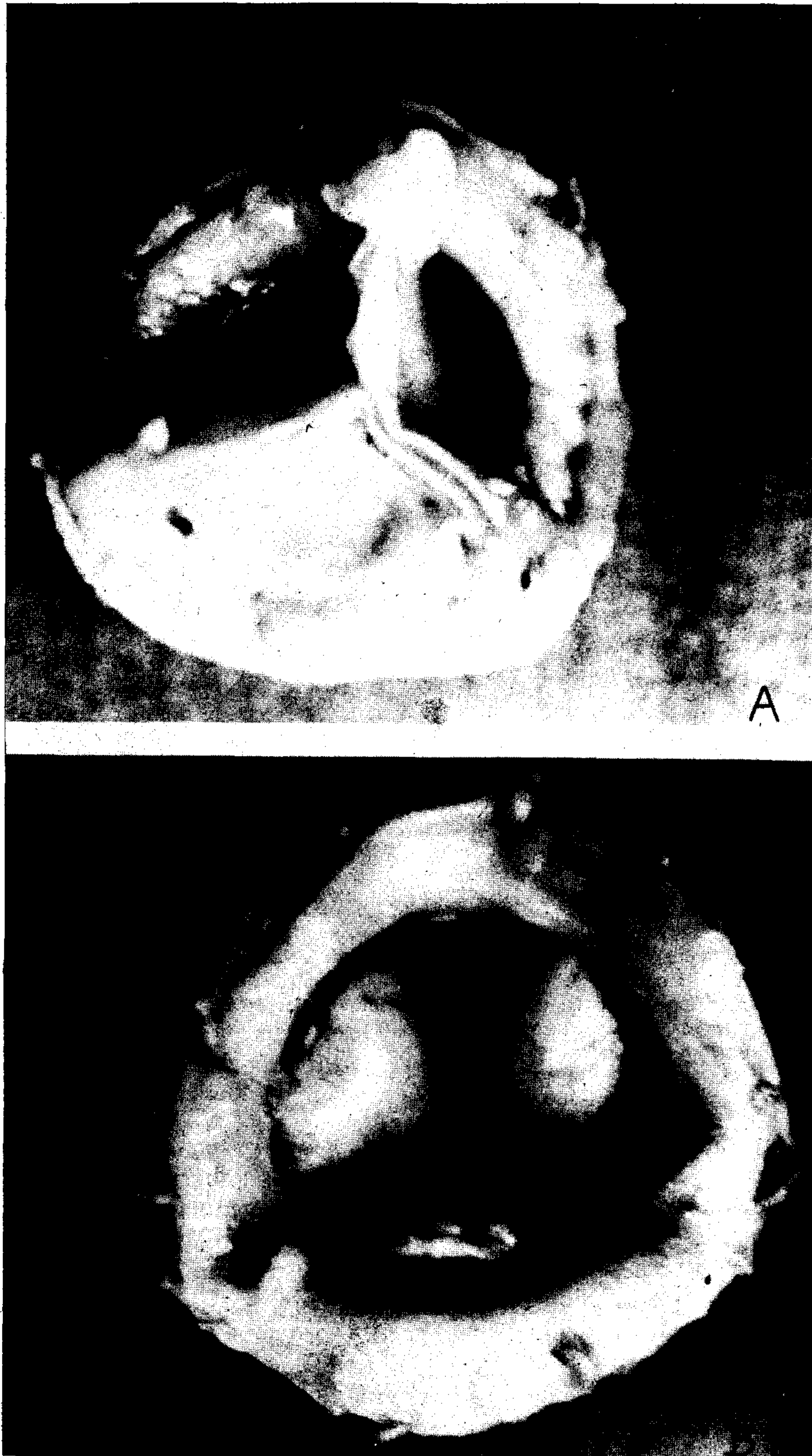


Fig. 13. A y B: Superficies aórtica y ventricular de la prótesis de la paciente número 17, implantada en posición aórtica. Se observa fisura de 15 cm a nivel de una de las valvas, con bordes retraídos y engrosados.



en la manufactura o a factores desconocidos. Estas observaciones sugieren que las características del colágeno en las diferentes bioprótesis pueden ser determinantes de su trombogenicidad. Se ha visto que los macrófagos y células inflamatorias de la superficie de las válvulas de duramadre tienen menos tendencia a adherirse que en las porcinas. Persiste la duda respecto de si esta diferencia se debe al uso de tejidos homólogos o heterólogos o a otra circunstancia.

Se sabe que las plaquetas son agregadas en mayor número por colágeno III que por colágeno I y esta diferencia se debería no solamente al tipo de colágeno sino a las proteínas asociadas como la fibronectina. Esto explica por qué las válvulas de duramadre son, de las prótesis biológicas, las que menor índice de trombogenicidad poseen.

#### *b) Alteraciones del colágeno*

Las alteraciones del colágeno de las cúspides valvulares son similares en las bioprótesis de duramadre y en las porcinas. Se ha observado granulación, fragmentación, densidades puntiformes (que representarían la forma más temprana de depósitos cálcicos) y asociación de las fibrillas con gran cantidad de material amorfo.

La fijación con glutaraldehído con que se procesan las válvulas porcinas parece aumentar la unión y fortaleza del colágeno valvular.<sup>3</sup> El tratamiento con glicerol mejora la duración del colágeno de prótesis de duramadre,<sup>10,29</sup> pero el mecanismo bioquímico, a través del cual esto se produce no ha sido aún aclarado y no hay razón para pensar que el glicerol aumenta la unión del colágeno.

De cualquier manera, el aspecto del colágeno valvular en las prótesis de duramadre tratadas con glicerol era en general similar al colágeno de las válvulas porcinas de igual tiempo de implante. Quizás la duramadre fijada en glutaraldehído sería demasiado rígida para cumplir las funciones de las cúspides valvulares. El colágeno en la duramadre se retrae cuando se trata con glicerol y esto tiende a incrementar la rigidez de las fibrillas colágenas. De acuerdo con Broom,<sup>30</sup> preservar la rigidez del colágeno aumenta la durabilidad del mismo en las cúspides valvulares distribuyendo las fuerzas mecánicas a las que las

fibrillas colágenas están sometidas durante el cierre y la apertura valvular.

En contraste con lo anterior, la fijación de válvulas porcinas en glutaraldehído a baja presión disminuye la rigidez (y probablemente la duración a largo plazo) del colágeno de las cúspides.

Puede concluirse que la duramadre humana puede representar un material más adecuado (pero con menos fijación) que el tejido valvular aórtico porcino para la construcción de las prótesis. De todas maneras, las prótesis actualmente asequibles no tienen las ventajas aquí delineadas debido al tratamiento con glicerol y al soporte rígido utilizado.

Como en las válvulas porcinas, las bioprótesis de duramadre pueden romperse y perforarse en relación con la rotura del colágeno. Estas áreas están frecuentemente situadas adyacentes a nódulos cálcicos y parece razonable que las fibrillas cercanas a esos nódulos pudieran sufrir daños mecánicos. No hay nada que haga pensar que las perforaciones observadas en este estudio se deban a infección (en realidad, solamente en una sola paciente, caso 19, se hallaron alteraciones histológicas compatibles con endocarditis). Los cambios en el conectivo eran similares en los bordes de las roturas y en las perforaciones sugiriendo un mecanismo similar. Creemos que dichas roturas y perforaciones aparecen en áreas en las cuales el stress mecánico se agrega al colágeno calcificado y lleva a la dehiscencia del tejido.

Los mecanismos de producción de las perforaciones parecen ser similares en ambas bioprótesis pero quedaría por aclarar si la tendencia a perforarse en las de duramadre disminuiría utilizando soportes flexibles.

#### *c) Depósitos cálcicos*

La histología de los depósitos cálcicos en bioprótesis de duramadre es similar a la de estudios previos.<sup>10,14,21,27</sup> En un corazón artificial,<sup>21,27</sup> las prótesis porcinas fijadas en glutaraldehído calcificaban más rápidamente y en mayor extensión que las de duramadre humana. El estudio ultraestructural en nuestro trabajo mostró que los depósitos cálcicos en válvulas de dura-

madre comprendían: trombos, vegetaciones dependientes de endocarditis infecciosas antiguas y cicatrizadas (caso 19), fibrillas colágenas, espacios interfibrilares en los haces colágenos, y células del conectivo. Esto ha sido similar a lo hallado<sup>23</sup> en depósitos cálcicos en válvulas porcinas implantadas y parece razonable concluir que la patogenia de los depósitos es similar en los dos tipos de bioprótesis. De cualquier manera, los depósitos cálcicos en las fibras colágenas eran poco comunes en las prótesis de duramadre, en contraste con la frecuencia en las porcinas. Parecería que el colágeno de la duramadre tendría menor tendencia a la calcificación que el de válvulas porcinas pero en los depósitos interfibrilares son más comunes en las prótesis de duramadre. Como en las porcinas, los nódulos más grandes formados por depósitos de calcio no mostraban una asociación importante con componentes celulares o extracelulares. Ambos parecerían haber sido desplazados por los nódulos cálcicos. En algunos lugares, todo el conectivo alrededor de los nódulos había sido erosionado y los gránulos cálcicos depositados formaban parte de la superficie valvular. Riddle y colaboradores<sup>31</sup> observaron depósitos similares en válvulas aórticas humanas estenóticas.

Las observaciones de este estudio sugieren que los grandes nódulos cálcicos se desarrollan dentro del tejido fibroso de la duramadre y menos en su superficie y que, quizás por las fuerzas hemodinámicas que actúan sobre las cúspides, tienden a proyectarse en las superficies de salida (bolsillos valvulares) más que en las de entrada. Los depósitos cálcicos en duramadre no implantada eran morfológicamente similares a las matrices vesiculares que se encuentran en otros tejidos (cartílago calcificado,<sup>32,33</sup> tendón<sup>34,35</sup> y válvula aórtica<sup>36</sup>). Esas vesículas representan un mecanismo a través del cual el tejido conectivo se calcifica.<sup>33</sup>

Estos depósitos difieren morfológicamente de los que se supone se desarrollarían después del implante de prótesis de duramadre. No se sabe si estas vesículas se convierten en focos de calcificación adicional después del implante. De todas maneras, sería razonable utilizar duramadre de individuos jóvenes en quienes estos depósitos

son menos frecuentes, para la manufactura de las prótesis.

De este y otros estudios previos<sup>20,21</sup> aparece claro que la calcificación es un problema importante en bioprótesis de duramadre como lo es en las porcinas, y seguramente es el que más limita su duración. En las prótesis porcinas, la calcificación era más grave y frecuente en pacientes de menos de 35 años y/o con enfermedad renal crónica,<sup>23,37</sup> y existe una tendencia similar en las prótesis de duramadre en posición aórtica en pacientes jóvenes. La fisiopatogenia de la producción de calcificación y trombosis secundaria en válvulas de duramadre se resume en el Cuadro I.

Las células de la sangre y el material plasmático penetrarían en las paredes de las prótesis a través de los canales linfáticos, de los espacios lacunares del tejido conectivo y de las luces vasculares rígidas, provocando degeneración colágena y calcificación parietal focal. Esta induciría a la fragmentación de las capas llevando a la trombosis, perforación y calcificación. Esta última provocaría, al aumentar la rigidez parietal, un aumento del stress mecánico que cerraría así un círculo fisiopatogénico.

Esta hipótesis no sólo tiene fundamento en los hallazgos de nuestro trabajo sino que tiene basamento experimental, como lo demuestran Haraşaki y colaboradores,<sup>21</sup> quienes utilizando válvulas porcinas y de duramadre humana implantadas en corazones artificiales en ovejas comprobaron trombosis plaquetarias en las cúspides valvulares, hasta después de 40 días postimplantación. A partir de los 13 días postimplantación se observaron pequeñas áreas con separación de fibras colágenas y trasudación de elementos sanguíneos. La separación aparentemente comenzaba a partir de los bordes libres y era facilitada por el stress mecánico, condiciones a las cuales no está formalmente sometida la duramadre. Después de 145 días de la implantación se observó calcificación de las paredes valvulares que comenzaba sobre las fibras de colágeno degeneradas y sobre los elementos sanguíneos trasudados. Los trombos plaquetarios desaparecieron alrededor del tercer mes postimplantación, lo que se correlaciona con los episodios tromboembólicos que ocurren



en los humanos en los tres primeros meses, coincidente con los hallazgos de este trabajo, en el cual se observaron pequeños trombos sobre las superficies protésicas de las válvulas de duramadre en aquellos pacientes que vivieron menos de 48 horas.

Respecto de la calcificación que ocurre tardíamente, ésta puede ser dividida en cuanto a su fisiopatogenia en: a) calcificaciones del colágeno y b) calcificaciones del material trombótico.

Según Ferrans y colaboradores,<sup>23</sup> quienes hacen un minucioso estudio de las calcificaciones en bioprótesis porcinas, el proceso de calcificación normal de los tejidos (hueso, cartílago y dientes) se debe al depósito de un compuesto inorgánico cristalino formado por una hidroxapatita (fosfato de calcio) sobre una matriz preexistente de fibras colágenas asociadas con proteoglicanos, glicoproteínas no colágenas, péptidos, lípidos y otros componentes de la sustancia fundamental del tejido conectivo.<sup>38,39</sup> Los iones calcio y fosfato llegan por la sangre y entran en contacto con la matriz calcificante. La calcificación normal se inicia por las vesículas matrices que son segregadas por las células del tejido conectivo y que contienen cristales de fosfato de calcio. Estos cristales aumentan de tamaño, las membranas de las vesículas matrices se rompen y la coalescencia de los cristales lleva a la calcificación del colágeno. En otras instancias diferentes la calcificación de las estructuras colágenas se produce sin participación de las matrices colágenas y el colágeno mismo es el lugar de formación y crecimiento de los núcleos de cristalización.<sup>40</sup> Este parece ser el mecanismo que se produce en las bioprótesis porcinas y en las de duramadre en la cual no se encontraron vesículas matrices. En ambos casos, las células del tejido conectivo no pueden participar en la secreción de dichas vesículas, ya que han muerto en el proceso de fabricación de las mismas, en el que se utiliza glutaraldehído y glicerina. El compromiso directo del colágeno en la formación de los depósitos cálcicos está corroborado por nuestros hallazgos de pequeños focos de cristales de calcio sobre las fibrillas colágenas y por Ferrans en válvulas protésicas porcinas, así como en depósitos cálcicos espon-

táneos y experimentales tanto *in vivo* como *in vitro*, en tendones de animales<sup>40,41</sup> y en el músculo esquelético en la miositis osificante humana.<sup>41</sup>

Es dable destacar que<sup>42</sup> los proteoglicanos se pierden durante la fabricación e implantación valvular y predisponen a la calcificación por dos razones: 1) falta de cobertura de los sitios de unión del colágeno con el fosfato y 2) que la pérdida de los mismos lleva a la formación de espacios interfibrilares en la duramadre que luego son ocupados por proteínas plasmáticas y otros constituyentes sanguíneos que proveerán de nuevos sitios de calcificación.

Recientemente se han identificado diferentes clases de proteínas con alta afinidad por el calcio.<sup>42,43</sup> Esta afinidad parece relacionarse con su contenido de ácido gammacarboxiglutámico, un aminoácido que para formarse requiere vitamina K y bicarbonato. Se ha hallado ácido gammacarboxiglutámico en hidrolizados de bioprótesis porcinas calcificadas, en válvulas aórticas humanas calcificadas pero no en bioprótesis no calcificadas.

En cuanto a la calcificación del material trombótico depositado sobre las superficies de las bioprótesis, han sido estudiadas ultraestructuralmente y las observaciones muestran que los sitios iniciales de calcificación son los leucocitos y las plaquetas atrapadas en el retículo de fibrina.<sup>23</sup> Los componentes intracelulares que se calcifican son las mitocondrias a partir de las cuales y por crecimiento de los cristales de calcio se llega a la formación de grandes masas cálcicas. Es dable pensar que estas masas posibilitan la formación de trombos adicionales y que los episodios repetidos de trombosis y calcificación son los responsables del aspecto laminar de los depósitos cálcicos.

#### d) *Endocarditis protésica*

A tres de los seis pacientes que tuvieron prótesis implantadas por más de dos meses se les hizo diagnóstico clínico de endocarditis infecciosa y en cuatro de estos pacientes se hizo el mismo diagnóstico durante el acto quirúrgico, sin embargo, sólo en un caso se aisló germen causal (*S. Viridans*) y en el estudio anatomopatológico se hallaron evidencias de endocarditis en



este solo caso (paciente número 19). Estos hallazgos ponen en duda los diagnósticos clínicos e intraoperatorios de endocarditis infecciosa, realizados en los pacientes números 15, 16, 17 y 18, y a pesar de que se considera a las prótesis de duramadre como materiales inertes desde el punto de vista inmunológico, se deberá descartar el síndrome de rechazo en los casos en que se sospechen endocarditis protésicas.

### CONCLUSIONES

1. Cuando ocurre, la disfunción de la prótesis de duramadre es precoz. En general, antes de los seis meses se evidencian signos clínicos de mal funcionamiento protésico: soplos de estenosis y/o insuficiencia.

2. La sintomatología, manifestada por palpitations y disnea, es progresiva y autolimitante comenzando antes del año de la implantación protésica.

3. En los casos con grave deterioro miocárdico, cuando se decide el recambio valvular, luego de alrededor de tres años, los pacientes tienen un franco deterioro general, con una muy mala función cardiovascular, aumentando por consiguiente los riesgos de la reoperación y siendo los resultados poco alentadores.

4. En los pacientes fallecidos en el postoperatorio inmediato, menos de 48 horas, no se observaron trastornos protésicos, no tuvieron complicaciones trombóticas y las causas de muerte se atribuyen a daño miocárdico previo a la operación y/o intraoperatorio.

5. Las válvulas de duramadre presentan como complicación precoz pequeños trombos fibrinoplaquetarios sin repercusión hemodinámica.

6. La patología observada demuestra que las complicaciones más importantes son las roturas, perforaciones y/o calcificación-trombosis secundaria.

7. El mecanismo de producción de estas complicaciones comienza a partir de la insudación de elementos celulares y material plasmático en los espacios lacunares y vasos existentes, lo que, asociado al stress mecánico, produce degeneración del tejido colágeno con subsiguiente calcificación y perforación (Cuadro I).

### RECOMENDACIONES

Se debe efectuar una mejor selección del material a ser utilizado para la confección de las válvulas. Es necesario realizar estudio estereoscópico para descartar áreas vasculares, examen radioscópico con intensificador de imágenes para eliminar las zonas que presenten microcalcificaciones; estudios histológicos para desechar las áreas de tejido con planos de clivaje entre las capas de duramadre o grandes espacios lacunares.

En cuanto a la fabricación y control de calidad de las válvulas, los métodos utilizados hasta la actualidad deben ser reemplazados por aparatos que desarrollen tensiones mecánicas similares a las del sistema receptor.

El recambio valvular de la prótesis de duramadre malfunctionante debe hacerse en el momento preciso, evitando el deterioro que lleva a estadios terminales.

Se deberá revisar el concepto de "material inmunológicamente inerte" para las válvulas de duramadre humana.

### DURA MATER VALVE. CLINICAL, SURGICAL AND ANATOMOPATHOLOGICAL STUDY

*Histologic and scanning and transmission electron microscopic studies were made of normal human dura mater and of cardiac valvular bioprostheses that were made of glycerol-treated human dura mater and were recovered after having been implanted in the aortic position (13 patients) or the mitral position (7 patients) for periods of time ranging up to 4 years. Both layers of duramater are composed mainly of large, wavy collagen fibrils (which are thought to correspond to type I collagen) and are relatively poor in elastic fibers and proteoglycans. Small calcified deposits were found in normal dura from older patients. Changes occurring in dura mater bioprostheses within 2 days after implantation consisted mainly of small surface thrombi. In these patients death was caused by myocardial lesions. Calcified nodules, degenerated collagen and evidence of penetration of erythrocytes and plasma proteins into the cusps were observed in bioprostheses that had*



failed after being in place for 1 to 4 years. In these patients was due to abnormal function of prostheses. No evidence of infective endocarditis in four patients as clinically diagnosed was found in the morphological studies. Then, we must review the concept of "inert material" for duramater valvular bioprostheses, as the clinical episodes of infective endocarditis may be a "reject syndrome". Selection of material, manufacturing, and quality controls of duramater bioprostheses should be improved to avoid the lesions detailed in this paper.

BIBLIOGRAFIA

1. Spray TL, Roberts WC: Structural changes in porcine xenografts used as substitute cardiac valves. Gross and histologic observations in 51 glutaraldehyde-preserved Hancock valves in 41 patients. *Am J Cardiol* 40: 319-330, 1977.
2. Fishbein MC, Gissen SA, Collins JJ, Barsamian EM, Cohn LH: Pathologic findings after cardiac valve replacement with glutaraldehyde-fixed porcine valves. *Am J Cardiol* 40: 331-337, 1977.
3. Ferrans VJ, Spray TL, Billingham ME, Roberts WC: Structural changes in glutaraldehyde-treated porcine heterografts used as substitute cardiac valves, transmission and scanning electron microscopic observations in 12 patients. *Am J Cardiol* 41: 1159-1184, 1978.
4. Ashraf M, Bloor CM: Structural alterations of the porcine heterograft after various durations of implantation. *Am J Cardiol* 41: 1185-1190, 1978.
5. Hufnagel CA, Harvey WP: Surgical correction of aortic regurgitation. *Bull Georgetown Univ Med Center* 4: 128, 1952.
6. Silver MD: Cardiac pathology. A look at the last five years. Part II. The pathology of cardiovascular prostheses. *Hum Pathol* 5: 127, 1974.
7. Binet JP, Planche C, Weiss M: Heterograft replacement of the aortic valve in biological tissue. In Ionescu MI, Ross DN, Wooler GH (Eds): Heart valve replacement, p 409. Butterworth and Co (Publisher) Ltd, London, 1972.
8. Barrot Boyes BG: Long-term follow up of aortic valvular grafts. *B Heart J* 33: 60, 1971.
9. Karp RB, Kirklin JW: Replacement of diseased aortic valves with homografts. *Ann Surg* 96: 921, 1969.
10. Zerbini EJ, Puig LB: The dura mater allograft valve. In Ionescu M (Ed): Tissue heart valves, pp 253-301. Butterworths, London-Boston, 1979.
11. Puig L: Sustituição da valva aortica por valva de duramater homologa. Tesis de doctorado, 1972.
12. Puig LB, Verginelli G, Belotti G, Kawabi L, Frack CC, Pileggi F, Decourt LV, Zerbini EJ: Homologous dura mater cardiac valve. Preliminary study of 30 cases. *J Thorac Cardiovasc Surg* 64: 154-160, 1972.
13. Puig LB, Verginelli G, Sosa E, Bellotti G, Zerbini E: Cinco años de experiencia con valva dura-mater homologa. *Rev Hosp das Clin (núm esp)*: 298-305, 1976.
14. Nuno-Conceição MD, Puig LB, Verginelli G, Iryia K, Bitencour MD, Zerbini MD: Homologous dura mater cardiac valves. Structural aspects of eight implanted valves. *J Cardiovasc Thorac Surg* 70: 499-508, 1975.
15. Barbeito-López J: A new trichrome stain. *Ann J Clin Path Tech* 16: 53, 1946.
16. Cajal S, De Castro F: Elementos de técnicas microscópicas del sistema nervioso, pp 103-104. Ed Salvat, 1972.
17. Personen R, Martino P, Rapola J: Histometry of the arterial wall. *Labor Invest* 30: 550, 1974.
18. Kajikauta K, Jamaguchi T, Katsuda S, Miwa A: An improved electron stain for elastic fibers using tannic acid. *J Electron Microsc (Tokyo)* 24: 287, 1975.
19. Fishbein MC, Gissen SA, Collins SA, Collins JJ, Barsamian EM, Cohn LH: Pathologic findings after cardiac valve replacement with glutaraldehyde-fixed porcine valves. *Am J Cardiol* 40: 331-337, 1977.
20. Lefrak EA, Starr A: Dura mater homografts. In Cardiac valve prostheses, p 341. Appleton-Century-Crofts, 1979.
21. Harasaki H, Kiraly RJ, Jacobs GB, Snow JL, Nose Y: Bovine aortic and human duramater valves. A comparative study in artificial hearts in calves. *J Thorac Cardiovasc Surg* 79: 125-137, 1980.
22. Martelli V, Wain WH, Bodnar F, Ross DN: Duramater bioprosthesis used for mitral valve replacement. In Seberning F, Klovekorn MP, Meisner H, Struck E (Eds): Proceedings of the Symposium on "Bioprosthetic cardiac valves", p 491. Munich, April 5-7, 1979.
23. Ferrans VJ, Boyce S, Billingham ME, Jones M, Ishihara T, Roberts WC: Calcific deposits in porcine bioprostheses; structure and pathogenesis. *Amer J Cardiol* 46: 721, 1980.
24. Ishihara T, Ferrans VJ, Jones M, Boyce SW, Roberts WC: Structure of bovine parietal pericardium and of unimplanted Ionescu-Shiley pericardial valvular bioprostheses. *J Thorac Cardiovasc Surg* (in press).
25. Ishihara T, Ferrans VJ, Jones M, Cabin HS, Roberts WC: Calcific deposits developing in a bovine pericardial bioprosthetic valve 3 days after implantation. *Circulation* (in press).
26. Ishihara T, Ferrans VJ, Jones M, Boyce SW, Roberts WC: Occurrence and significance of endothelial cells in implanted porcine bioprosthetic valves. *Am J Cardiol* (Submitted).
27. Harasaki H, Snow JL, Kiraly RJ, Nose Y: The dura mater valve: In vitro characteristics and pathological changes after implantation in valves. *Artif Organs* 3: 176, 1979.
28. Harasaki H, Kiraly RJ, Jacobs GB, Snow JL, Nose Y: Bovine aortic and human duramater valves. A comparative study in artificial hearts in calves. *J Thorac Cardiovasc Surg* 79: 125-137, 1980.
29. Zerbini EJ, Puig LB: Experience with dura mater allograft. Long-term results. In Seberning F, Klovekorn P, Meisner H, Struck E (Eds): Proceedings of the Symposium on "Bioprosthetic cardiac valves", p 179. Munich, April 5-7, 1979.
30. Broom ND: Behavior of glutaraldehyde preserved heart valve tissue. *J Biochem* 10: 707-724, 1977.
31. Riddle JM, Magilligan DJ Jr, Stein PD: Surface topography of stenotic aortic valves by scanning electron microscopy. *Circulation* 61: 469, 1980.
32. Ali SY: Analysis of matrix vesicles and their role in the calcification of epiphyseal cartilage. *Fed Proc* 35: 135, 1976.
33. Anderson HC: Matrix vesicle calcification. *Fed Proc* 35: 105, 1976.
34. Sarkar K, Uthoff HK: Ultrastructural localization of calcium in calcifying tendinitis. *Arch Pathol Lab Med* 102: 266, 1978.
35. Höling HJ, Barckhaus RH, Krefting ER, Schreiber J: Electron microscopic microprobe analysis of mineralized collagen fibrils and extracollagenous regions in turkey leg ten-



- don. *Cell Tissue Res* 175: 345, 1976.
36. Kim KM: Calcification of matrix vesicles in human aortic valve and aortic media. *Fed Proc* 35: 156, 1976.
37. Magilligan DJ Jr, Lewis JW, Jara FM, Lee MW, Riddle JM, Stein PD: Spontaneous degeneration of porcine bioprosthetic valves. *Ann Thorac Surg* 30: 259, 1980.
38. Frank RM, Voegel JC: Le crystal d'apatite biologique: son elaboration, son comportement physiologique et pathologique. *Biol Cell (Paris)* 28: 187-194, 1977.
39. Montel G: Constitutions et structure des apatites biologiques: influence de ces facteurs sur leurs propriétés. *Biol Cell (Paris)* 28: 179-186, 1977.
40. Glimcher MJ: Composition, structure and organization of bone and other mineralized tissues and the mechanism of calcification. *Handbook of Physiology* 7: 25-116, 1976.
41. Gerlach U, Hölling HJ, Themann H: Metabolism and structure of connective tissue during extraosseous calcification. *Clin Orthop* 69: 118-134, 1970.
42. Lian JB, Skinner M, Glimcher MJ, Gallop PM: The presence of gamma-carboxyglutamic acid in the proteins associated with ectopic calcification. *Biochem Biophys Res Comm* 73: 349-355, 1976.
43. Levy RJ, Zenker JA, Lian JB: Vitamin K-dependent calcium binding proteins in aortic valve calcification. *J Clin Invest* 65: 563-566, 1980.

#### AGRADECIMIENTOS

— Al Dr. Fernando Boullon, por facilitar el material protésico, historias clínicas y sus comentarios clínico-quirúrgicos.

— Al Dr. Jorge Albertal, por el envío de las prótesis de duramadre extraídas en las reoperaciones.

— Al Dr. Victor Ferrans, Jefe del Laboratorio de Ultraestructura Cardíaca del National Institute of Health, USA, por haber dirigido a uno de los autores en las técnicas de microscopía electrónica.

— Al editor de la revista "Human Pathology" por haber permitido la reproducción de algunas de las fotos utilizadas en este trabajo.