

Biología de los injertos aórticos en animales sometidos a dieta aterogénica (*)

M. ZUMEL y MARIN PEREZ-TABERNERO

**Cátedra de Cirugía (Prof. S. Tamames)
Facultad de Medicina
Universidad de Salamanca (España)**

Introducción

Desde que **Carrel** y **Guthrie** establecieron la técnica de la sutura arterial, surgen con el tiempo diversos métodos en el terreno de la cirugía arterial directa.

El empleo de las diferentes técnicas, tanto en el campo experimental como en clínica humana, y la observación de sus resultados a corto y largo plazo ha permitido seleccionar los mejores métodos, perfeccionar su técnica quirúrgica y sentar las indicaciones adecuadas en cada caso.

Es en la actualidad el problema biológico el que ocupa un primer plano.

El núcleo del problema lo constituyen las alteraciones involutivas de la prótesis arterial que se presentan tras un tiempo de incorporación variable y que se teme sean más bien una regla biológica que una excepción patológica.

También es importante conocer hasta qué grado la prótesis y los tejidos neoformados en torno a la misma son susceptibles de afectarse por la enfermedad arterosclerótica.

Material y método

Para llevar a cabo nuestro trabajo experimental nos hemos valido de 10 perros mestizos adultos, con un peso variable entre 16 y 30 kilogramos. En estos animales hemos colocado injertos arteriales sintéticos de dacron, de un diámetro oscilante entre seis y diez milímetros y una longitud de tres a cuatro centímetros.

La técnica que hemos seguido para su colocación ha sido la siguiente.

La anestesia se ha efectuado con pentotal sódico intravenoso a la dosis de treinta miligramos por kilogramo de peso. Una vez dormido el animal se procede a su intubación endotraqueal, manteniendo la respiración con el respirador auto-

(*) Comunicación a las XXI Jornadas Angiológicas Españolas, Córdoba (España), 1975.

mático Dräger, alimentado de oxígeno al 100 %. Esta ha sido la única medicación utilizada durante la anestesia. Hemos utilizado como vía de acceso una laparotomía media desde apéndice xifoides a sínfisis del pubis, todo ello con las máximas garantías de asepsia. Se incide longitudinalmente el peritoneo parietal posterior sobre la zona correspondiente a aorta abdominal infrarrenal. Procedemos a continuación a la disección del segmento aórtico comprendido entre las arterias renales y la trifurcación aórtica, terreno elegido para la colocación de la prótesis. Se secciona transversalmente la aorta, extirpando tres o cuatro centímetros, que van a ser sustituidos por el material sintético, que debe ser del mismo calibre y longitud.

Los injertos tipo «Knitted», con su amplia porosidad permiten un mejor anclaje del injerto, pero sin embargo también son causa de hemorragias importantes a través de su pared que, si bien acaban por coagular espontáneamente, originan pérdidas considerables de sangre. Para evitar esto hay varios métodos de «preclotting» o precoagulación. Nosotros hemos empleado sistemáticamente el siguiente: obtenemos sangre del animal por punción arterial, bañamos la totalidad del injerto tanto su cara interna como la externa en dicha sangre sin heparinizar, hasta conseguir una coagulación intraparietal. Después se exprime cuidadosamente el injerto a fin de que no quede ningún pequeño trombo adherido a la pared.

Hemos realizado siempre la misma técnica para las anastomosis. Las anastomosis son término terminales, el material de sutura es Nylon Monofilar de 5-0, y el tipo de sutura es el siguiente: Comenzamos la anastomosis por la cara posterior, donde realizamos una sutura continua eversante tipo Crafoord. Hemos realizado en primer lugar la anastomosis proximal y luego la distal. En ningún caso hemos practicado heparinización antes del clampaje, que viene a durar de veinte a treinta minutos, tiempo necesario para realizar ambas anastomosis.

A continuación hacemos una peritonización lo más perfecta posible, importante para el buen porvenir del injerto, evitando una estrangulación intestinal o una fistula aortoentérica. Por fin se cierra la laparotomía por planos con material irreabsorbible.

Una vez que el animal es capaz de respirar por sí solo, procedemos a la desintubación.

El único tratamiento postoperatorio ha sido la medicación antibiótica, consistente en un millón de unidades de penicilina y un gramo de estreptomina, repetido dos veces con un intervalo de doce horas por vía intramuscular, durante una semana.

A las veinticuatro horas de la intervención los animales han comenzado a tomar alimentos por boca, tanto líquidos como sólidos.

Una vez recuperados totalmente de la intervención, a los treinta o cuarenta y cinco días, hemos practicado tiroidectomías totales en todos los animales con el fin de lograr un aumento en sus cifras de colesterol al eliminar la acción lipolítica de las hormonas tiroideas.

Inmediatamente después de colocado el injerto aórtico, los animales han comenzado a alimentarse con un régimen aterogénico, especialmente rico en grasas. Dicha dieta se componía aproximadamente de cincuenta por ciento de comida de perros, cuarenta por ciento de carne de caballo y diez por ciento de colesterol. Con este régimen los hemos mantenido hasta el momento de sa-

crificarlos; los que continúan viviendo en la actualidad siguen alimentándose idénticamente.

Resultados

En todos los animales el injerto latía perfectamente al final de la intervención y tenían excelente pulso en ambas arterias femorales.

Los diez perros se recuperaron perfectamente de la anestesia al cabo de dos o tres horas, y en ninguno de ellos había trastornos motores evidentes en las extremidades ni incontinencia de esfínteres, signos de lesión neurológica.

Asimismo, toleraron perfectamente la intervención que se les practicó para extirparles la glándula tiroidea. Únicamente en dos de ellos se observó, a las veinticuatro horas trastornos en forma de ronquera, por posible lesión o compresión por el edema tisular del nervio recurrente, de los cuales uno se recuperó totalmente pasado un tiempo.

Hemos mantenido a los animales bajo diversos controles periódicos durante este tiempo: 1. Aortografías seriadas. 2. Determinaciones cuantitativas en el suero de lípidos totales, colesterol total, triglicéridos y fosfolípidos. 3. Determinaciones semicuantitativas y cualitativas en el suero de ésteres del colesterol, colesterol libre, fosfolípidos, triglicéridos y ácidos grasos. 4. Determinaciones semicuantitativas y cualitativas en la pared arterial de ésteres de colesterol, colesterol libre, fosfolípidos, triglicéridos y ácidos grasos. 5. Estudio histopatológico del injerto, zona de anastomosis y pared aórtica vecina al injerto.

1. Aortografías seriadas

Para valorar la permeabilidad del injerto, el estado de las anastomosis y la aparición de aneurismas o fístulas, hemos realizado aortografías periódicamente. La técnica empleada ha sido la siguiente:

El animal es anestesiado con pentotal sódico intravenoso, treinta miligramos por kilogramo de peso, lo intubamos endotraquealmente y le conectamos el respirador automático con oxígeno puro. Lo colocamos en decúbito prono y procedemos a puncionar la aorta por encima del injerto. Una vez ya en el interior de la luz vascular inyectamos bajo presión manual el contraste Urografin 76 %.

Fue a los doce meses de la colocación del injerto cuando practicamos las arteriografías.

Todos excepto dos se mostraban perfectamente permeables, sin acodamientos ni estenosis, sin dilataciones aneurismáticas ni ninguna otra anomalía y las ilíacas se rellenaban perfectamente. En estos ocho animales el latido de las femorales era bien ostensible. La pared interna parecía ser lisa, sin evidencia radiológica de defectos de repleción. Solamente una ligera constricción de la línea de sutura fue observada en algunos casos.

En dos perros el injerto no se relleno en la aortografía realizada. Las ilíacas primitivas se rellenaban a través de la circulación colateral. No se palpaban pulsos femorales, pero no presentaban trastornos tróficos y motores evidentes, sin duda alguna por el abundante flujo que les llegaba a las extremidades por la circulación colateral desarrollada. Posteriormente, cuando se sacrificaron estos dos perros y se les extirpó la prótesis, se confirmó la obliteración de la luz del injerto, como veremos más adelante en el estudio histopatológico.

2. Determinaciones cuantitativas en el suero

A los 24 o 30 meses de haber estado sometidos a una alimentación rica en grasas se han realizado tomas sanguíneas para estudiar cuantitativamente el estado de sus lípidos, con el fin de ver las alteraciones aparecidas en el plasma de los animales tras dos años de dieta aterogénica asociada a tiroidectomía total.

Los valores que encontramos fueron los expuestos en la Tabla I.

Teniendo en cuenta los valores hallados en estos mismos animales antes de comenzar el trabajo, y tomados como control, estas cifras demuestran un claro aumento sobre los límites normales, fundamentalmente de los lípidos totales y colesterol total y en menor cuantía de los triglicéridos y de los fosfolípidos.

TABLA I
Estudio cuantitativo de los lípidos en el suero

LÍPIDOS TOTALES - COLESTEROL TOTAL - TRIGLICERIDOS - FOSFOLÍPIDOS

Perro nº	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	valor medio
Lípidos totales	719	730	800	770	410	745	667	495	975	864	717,5
Colesterol total	210	260	295	280	180	200	211	268	272	282	245,8
Triglicéridos	114	105	180	175	81	90	175	261	75	179	143,5
Fosfolípidos	325	205	240	200	235	290	200	260	322	205	248,2

ESTUDIO LIPIDICO DEL PERRO

Lípidos totales - valor mínimo 297 mgrs. %, máximo 710 mgrs. %, medio 510 mgrs. %

Colesterol total -valor mínimo 75 mgrs. %, máximo 218 mgrs. %, medio 180 mgrs. %

Triglicéridos -valor mínimo 38 mgrs. %, máximo 153 mgrs. %, medio 112 mgrs. %

Fosfolípidos -valor mínimo 87 mgrs. %, máximo 210 mgrs. %, medio 195 mgrs. %

3. Determinaciones semicuantitativas y cualitativas en el suero

Mediante técnicas de cromatografía en capa fina, hemos hecho un estudio cuantitativo de las diversas clases de lípidos.

Sin embargo, el método cromatográfico es por excelencia cualitativo y semicuantitativo si se trabaja en condiciones estandar. Permite hallar el aumento o disminución de una fracción determinada comparando la intensidad y diámetro de las manchas lipídicas obtenidas con un control conocido. Como se desprende de lo dicho, este tipo de valoración es muy subjetivo.

Hemos comparado el suero de los animales con los que hemos trabajado con un suero normal tomado como patrón o control cromatográfico.

La extracción de los lípidos del suero se realiza con un solvente orgánico, metanol-cloroformo.

El estudio cromatográfico del suero del perro es el siguiente:

1. Lípidos neutros. El estudio cromatográfico de los lípidos neutros demuestra la presencia de ésteres del colesterol, glicéridos, ácidos grasos libres, colesterol libre y fosfolípidos. 2. Esteres del colesterol. El cromatograma de los ésteres del colesterol demuestra la presencia de ésteres saturados, monoenoicos, dienoicos, trienoicos y tetraenoicos. 3. Fosfolípidos. En el cromatograma de los fosfolípidos se separan cefalina, lecitina, dos esfingomielinas y lisolecitina; la fracción mayoritaria corresponde a la lecitina. Las proporciones en los lípidos neutros son semejantes, aunque en menor proporción, a las que se observan en la especie humana.

Cuando realizamos la cromatografía en capa fina de los lípidos séricos de los animales, habrían transcurrido de quince a veinte meses desde el comienzo de nuestro trabajo experimental.

Hemos encontrado datos de interés en los lípidos neutros, donde hay un aumento claro en los ésteres del colesterol, las variaciones del colesterol libre han sido diversas pero ligeras; sin embargo, los fosfolípidos aumentaron de una manera importante.

En el estudio cromatográfico de los ésteres del colesterol encontramos las siguientes fracciones: ésteres saturados, monoenoicos, dienoicos, trienoicos y tetraenoicos. Todas las fracciones estaban aumentadas de una forma regular en relación con el control cromatográfico.

4. Determinaciones semicuantitativas y cualitativas de los lípidos en la pared arterial

Cuando al cabo de dos años los animales fueron sacrificados y se les extirpó la prótesis para su estudio histopatológico, se recogieron zonas de pared aórtica para su estudio bioquímico mediante técnicas de cromatografía en capa fina.

La extracción de los lípidos se efectuaron con metanol cloroformo.

La cromatografía de los lípidos neutros demostró las siguientes fracciones: ésteres de colesterol, glicéridos, ácidos grasos, colesterol libre y fosfolípidos.

En los resultados obtenidos encontramos, comparándolos con el patrón cromatográfico, un gran aumento tanto en la intensidad como en el diámetro de las manchas cromatográficas del colesterol esterificado. El colesterol libre se encontraba asimismo en mayor intensidad, pero siempre muy por debajo del esterificado. También los glicéridos y los fosfolípidos habían sufrido un ostensible aumento en relación con el control.

Hicimos también cromatografía en capa fina de los fosfolípidos. Estudiamos cualitativamente las distintas fracciones y comparamos los resultados obtenidos en el suero con el de la pared arterial.

Encontramos las siguientes fracciones: cefalina, lecitina, dos esfingomielinas y lisolecitina. La lecitina se mostró como principal componente.

Había un aumento importante de las esfingomielinas en la pared arterial, en relación con las mismas en el suero.

Tanto los estudios analíticos como los cromatográficos se realizaron en el Laboratorio de Investigaciones Clínicas del Hospital Clínico de la Facultad de Medicina.

5. Estudio histopatológico del injerto

Entre los quince y treinta meses desde la colocación de los injertos hemos procedido a la extirpación de los mismos para realizar su estudio histopatológico.

Tres de los diez animales viven aún con la prótesis a fin de poder valorar su evolución a más largo plazo (de tres a cinco años).

De los siete animales que iban a ser sacrificados, en dos de ellos había ausencia total de pulso en ambas arterias femorales (correspondían a aquellos en que el injerto no se relleno de contraste durante la exploración angiográfica que les habíamos practicado unos meses antes).

Los perros fueron muertos con una sobredosis anestésica de pentotal sódico intravenoso. Se abrió el abdomen con una laparotomía media de pubis a xifoides.

La peritonización parietal posterior era perfecta. No había ninguna solución

de continuidad, ninguna asa intestinal se había herniado y no había presencia alguna de fístulas aorto-entéricas.

En general, el aspecto a simple vista era de una normalidad absoluta, excepto en un animal que era portador de una tumoración retroperitoneal, redondeada, yuxtaaórtica y justamente por encima del injerto, de quince por veinte centímetros de tamaño, lisa al tacto, de consistencia dura y que no iatía.

A continuación se disecó la zona del injerto, cosa que nunca resultó fácil por las múltiples adherencias organizadas. El injerto tenía a la palpación una cierta rigidez.

La palpación del resto de la aorta abdominal demostró en algunos animales pequeñas induraciones de la pared.

Extirpamos la prótesis y tres o cuatro centímetros de la zona proximal y distal de la arteria y la fijamos en formol al 10 % para su estudio histopatológico.

Macroscópicamente: En cinco de los siete injertos extraídos encontramos permeabilidad total. La prótesis está completamente recubierta por un tejido conjuntivo neoformado que la sujeta firmemente a los extremos de la arteria. A nivel de la zona in-

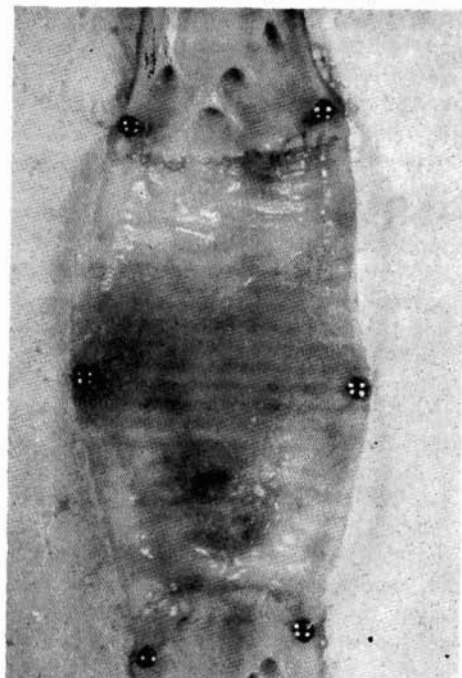


Fig. 1: Aspecto de la superficie interna del injerto, con la neointima que lo recubre totalmente y se continúa con la íntima vascular. La sutura está del todo recubierta por la neointima. Se observa una zona rojiza correspondiente a un área de hemorragia subintimal. Las rugosidades del dacron se proyectan sobre la neointima, que aparece irregularmente desarrollada. La íntima vascular está ligeramente engrosada en las proximidades de la anastomosis.

ertada es común el engrosamiento vascular condicionado por la prótesis, la zona de la anastomosis es perfectamente demostrable y la estructura plegada

en forma de acordeón del dacron se insinúa debajo del tejido neoformado.

Una vez abierta la pieza longitudinalmente, observamos una membrana translúcida, lisa y brillante que recubre la totalidad de la prótesis. Sobre esta membrana se proyectan las rugosidades del dacron. Corresponde a la pseudoíntima

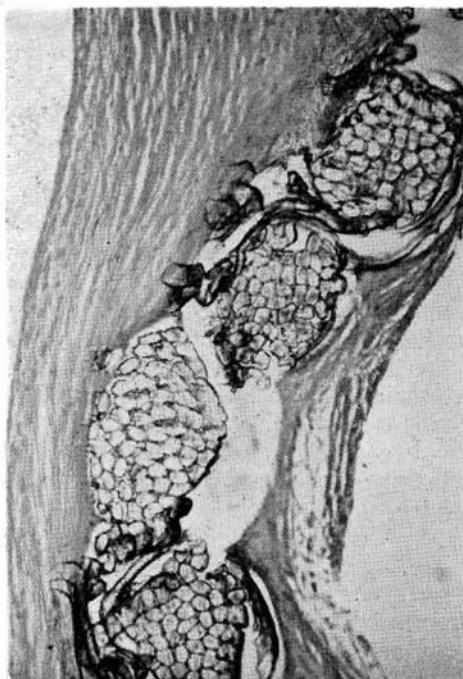


Fig. 2: Panorámica del injerto (fragmento). Se advierte la neoformación del tejido fibroso subintimal y seroso que se insinúa entre las fibras de la prótesis (20 x).

formada a expensas del endotelio de la arteria (Fig. 1). Este revestimiento interno de aspecto translúcido se extiende más allá de las líneas de sutura, continuándose casi imperceptiblemente con el endotelio vascular. En la línea de sutura se aprecia el límite entre ambos tejidos, sin que exista una transición brusca sino más bien una continuidad. La coaptación entre la arteria y el injerto a nivel de la sutura es perfecta, sin pequeños trombos parietales, ensanchamiento ni estenosis. En algunas áreas de la prótesis se advierte una coloración rojiza que corresponde a hemorragias tenues subintimales. La arteria adyacente era normal, salvo un leve engrosamiento de la íntima cerca de la anastomosis.

En la prótesis no se observaron placas de ateromas, calcificaciones u otras alteraciones de carácter involutivo. Sin embargo, en varios animales aparecieron lesiones ateromatosas, consistentes en placas amarillo-anaranjadas, de 0,1 a 1 centímetro de diámetro, distribuidas por toda la aorta abdominal, fundamentalmente a nivel de las desembocaduras de los

colaterales. En ocasiones observamos alguna placa de ateroma en la anastomosis proximal.

Como excepción de los casos anteriores hemos de hacer mención de dos hallazgos.

El primero corresponde a una dilatación aneurismática, ovoide, de quince por veinte centímetros de diámetro, de situación retroperitoneal, colocada por encima de la anastomosis superior. Mantenía comunicación con la luz aórtica a través de un pequeño fallo de la sutura proximal. Constaba de un cuello y un cuerpo muy voluminoso. Su pared la constituía tejido fibroso neoformado y por fuera el peritoneo parietal. Una colateral aórtica se distribuía ampliamente irrigando toda la pared aneurismática. La sección de la tumoración, así como la del injerto, mostró una cápsula fibrosa y un contenido hemático trombosado antiguo.

La segunda excepción la constituye otra tumoración aneurismática, fusiforme,

de cuatro por tres centímetros, de consistencia dura, y que a la sección correspondía a una hemorragia intraparietal situada entre la neoadventicia y la prótesis de dacron. También en este caso existía una trombosis del injerto.

Microscópicamente: Desde el punto de vista histológico, el injerto ofrece cierta dificultad para la obtención de los cortes para su estudio.

No obstante el dacron forma una masa compacta con el tejido conjuntivo fibroso neoformado. Dicho tejido se insinúa entre las fibras del material sintético y recubre tanto su superficie interna como la externa. En ambas superficies ofrece el tejido conjuntivo una disposición laminar paralela al eje del vaso (Fig. 2).

Entre las fibras del tejido neoformado se observan fibroblastos y algunas células redondeadas que corresponden a linfocitos y monocitos. Existen igualmente algunas zonas con células macrófagas cargadas de hemosiderina, así como hemosiderina extracitoplasmática.

En ocasiones dentro del tejido fibroso existente, encontramos células de tipo histiocitario, con núcleo pequeño y picnótico, y citoplasma amplio y claro. Existen igualmente hendiduras longitudinales por debajo de la neoíntima, que se corresponden con espículas de colesterol. También hallamos áreas de calcificación.

La reacción histiocitaria y macrófaga siempre ha sido mínima.

La capa de tejido conjuntivo fibroso neoformado que tapiza la superficie interna de la prótesis se encuentra recubierta por una lámina delgada de células endoteliales, constituyendo la neoíntima.

Esta neoíntima, fuertemente adherida a la capa de fibrina, tiene un grosor que oscila alrededor de un milímetro. Se continúa suavemente

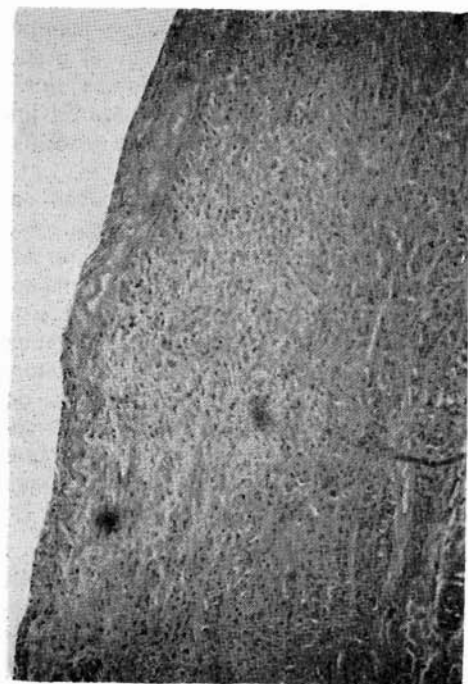


Fig. 3: Zona de unión de las dos íntimas. Engrosamiento de la íntima arterial y bajo ella un tejido colágeno joven con células fibroblásticas y linfocitarias (20 x).

con el endotelio propiamente vascular (Fig. 3).

Asimismo, en la adventicia el tejido conectivo perivascular se continúa con el tejido conectivo neoformado en torno al injerto.

No se han encontrado, tras estos dos años de evolución, alteraciones estructurales significativas en el dacron. Las alteraciones observadas en el dacron en las microfotografías, traducen solamente la dificultad de obtener cortes finos de esta fibra (Fig. 2).

En las zonas de unión del injerto al vaso las capas elásticas muestran una

desorientación y en el espacio entre ellas y el tejido injertado existe un tejido conectivo laxo y frecuentemente áreas de calcificación (Fig. 4).

Es común en el extremo proximal del vaso la existencia de un ligero engrosamiento fibroso de la íntima.



Fig. 4: Zona de unión de la arteria y la prótesis, que deja un espacio en blanco artefactual, continuándose la pared vascular con tejido fibroso neoformado. Las fibras musculares del extremo vascular aparecen contorneadas por efecto de la sutura (20 x).

designar una enfermedad crónica de las arterias, caracterizada por el endurecimiento, deformidad e inelasticidad de las mismas y el depósito de diferentes sustancias como lipoides, sales cálcicas, tejido fibroso y sustancias hialinas en las tunicas arteriales, de una forma segmentaria.

Hasta aquí parece no haber grandes divergencias, cosa que no ocurre ya al hablar de la etiopatogenia de este proceso.

Algunos (23) consideran dos factores: Factor humoral y factor parietal.

Beaumont (4) insiste en que, en lugar de intentar oponer las dos teorías básicas para explicar la etiopatogenia de la arteriosclerosis, deberá tenerse en cuenta el carácter multifactorial de esta enfermedad.

Los lípidos (38), si bien desempeñan un papel importante, no constituyen el único factor en el desarrollo de la lesión aterosclerótica. Hay que tener en cuenta,

El estudio histopatológico se realizó en el Departamento de Histología y Anatomía Patológica de la Facultad de Medicina.

Discusión

Una de las metas que nos habíamos propuesto al comenzar nuestro trabajo experimental era ver el grado de afectación de los materiales sintéticos injertados en las arterias de los animales, por la enfermedad arteriosclerótica.

Ante esto, se nos planteaban varios problemas. En primer lugar, producir experimentalmente la enfermedad arteriosclerótica en los animales. En segundo lugar, comprobar si habíamos tenido éxito en nuestra tentativa y ver si efectivamente había datos, tanto humorales como parietales, de que dichos animales habían enfermado. Y en tercer lugar, en caso de que así ocurriera, ver en qué grado las prótesis y el tejido neoformado en torno a ellas se habían afectado.

Vidal-Barraquer (35), **Martorell** (23) y **Farreras** (11) están de acuerdo con pequeñas variaciones en utilizar el nombre de arteriosclerosis para

además, los llamados factores de riesgo: hipertensión arterial, abuso del tabaco, algunas enfermedades metabólicas, como la obesidad y la diabetes, algunas endocrinopatías, como el mixedema, lesiones de la pared arterial y factores psíquicos.

La epidemiología demuestra una relación entre la concentración de colesterol y triglicéridos en el plasma y la frecuencia de las manifestaciones clínicas arteriosclerosas.

Tallon y colaboradores (33) citan oscilaciones en la colesterolemia de los sujetos normales que pueden llegar a modificar las cifras hasta en un 25 % y, sin embargo, en los enfermos de liparteriosis estas oscilaciones pueden sobrepasar el 55 %.

Por lo tanto, la creencia de que la arteriosclerosis es, al menos en gran medida, una enfermedad metabólica parece admitido. Pudiéndose hablar de los lípidos como importantes factores de riesgo potencial.

Sin duda alguna, los trabajos experimentales fueron un importante apoyo al hablar de los lípidos y su capacidad de aterogénesis.

González (14) cita en su trabajo cómo **Anitschkow** y **Chalutow** reprodujeron por vez primera la aterosclerosis en conejos, al alimentarlos con colesteroína pura; y con ello abrieron el camino de la investigación experimental.

Meyer (25) señala que las alteraciones arteriales inducidas en el campo experimental por la ingesta de alimentos ricos en grasas se corresponden en localización y estructura con las lesiones arteriosclerosas de la clínica humana. La magnitud de la arteriosclerosis producida por la colesteroína es proporcional, generalmente, a la duración y magnitud de la hipercolesterinemia. Apunta también otros factores implicados en la etiopatogenia de esta enfermedad. Pero, dice, que es llamativo que hasta ahora la arteriosclerosis haya podido ser reproducida sólo por la administración de colesterol y grasa con los alimentos, mientras que los demás métodos han fracasado.

Creech (6), en un trabajo experimental sobre hipercolesterinemias y sustitutos aórticos sintéticos, utiliza carne de caballo (70 %), comida de perros (25 %) y colesterol (5 %) como dieta aterogénica. Consiguiendo, tras 13 meses, alteraciones bioquímicas e histológicas (tanto macroscópicas como microscópicas) típicas de la enfermedad aterosclerótica.

También **Morgan (26)** utiliza un régimen aterogénico para su estudio sobre los injertos venosos. Consta de colesterol (20 %), aceite de cocina (73 %), ácido cólico (5 %) y tiouracilo (2 %), conteniendo 100 gramos diarios en total.

Ambos autores hicieron hipotiroideos a los animales mediante la aplicación de yodo radiactivo a dosis de uno (6) y medio (26) milicurie por kilogramo de peso corporal respectivamente.

Así, pues, intentamos crear ese ambiente de aterogénesis en los animales mediante una dieta rica en grasas, a la que añadimos un diez por ciento de colesterol. Dejándolos, además, hipotiroideos mediante intervención quirúrgica.

Tras dos años en esta situación, encontramos cambios humorales importantes.

Los lípidos totales se habían incrementado en un 40 %, la hipercolesterinemia era también manifiesta, aumentado el colesterol total en un 35,4 %, los triglicéridos llegaron hasta un 28,1 % más del valor normal, y los fosfolípidos hasta un 27,2 % (Tabla I).

Si repasamos el síndrome bioquímico de la arteriosclerosis observamos lo siguiente.

La bioquímica hemática en la arteriosclerosis tiene valor diagnóstico (11) y está constituida por los siguientes elementos: 1. Hiperlipemia. 2. Hipercolesterinemia. 3. Disminución de los fosfolípidos en relación con la colesteroína, a pesar del aumento de ambos. 4. Hipertrigliceridemia. 5. Elevación de las beta lipoproteínas y aumento del cociente beta/alfa lipoproteínas.

El colesterol es sin duda la fracción lipídica más estudiada. Repetidos trabajos de **Keys, Brown, Blackburn, Sánchez de La Cuesta**, etc. (14) sobre la hipercolesterinemia y su relación con las manifestaciones clínicas arterioscleróticas, nos hacen admitir que dicha enfermedad va asociada en gran cantidad de casos, si no en todos, a cifras altas del colesterol plasmático.

Desde las observaciones de **Starling** y **Polonowski** se ha investigado mucho sobre el papel que desempeñan los fosfolípidos en la solubilización de los triglicéridos y el colesterol (14).

De aquí que frecuentemente se les considere no aislados sino en relación con el colesterol, constituyendo el cociente de **Eikermann** o relación colesterol/fosfolípidos, que se encuentran notablemente aumentados en la arteriosclerosis.

Albrink (1) opina que las hipertrigliceridemias están más en relación con la arteriosclerosis que los aumentos de la colesteroína.

A la vista de esto y de los datos obtenidos por nosotros, confirmados luego con técnicas de cromatografía en capa fina para estudiar cualitativamente y semicuantitativamente los lípidos en el suero, podemos afirmar que conseguimos un patrón bioquímico humoral tipo arterioscleroso.

Para estudiar el grado de afectación de la pared arterial por la infiltración lipóidea empleamos técnicas de cromatografía en capa fina.

Corominas y **Fernández-Cruz** (5), estudian mediante CCF la composición de los lípidos de la aorta abdominal normal y ateromatosa, realizando cromatografías de lípidos neutros, de ésteres del colesterol y de fosfolípidos. Después de estudiar ochenta y cuatro aortas procedentes de necropsias, consideran como patrón de ateromatosis un gran predominio del colesterol esterificado sobre el libre, gran proporción de ésteres monoenoicos y aumento de esfingomielinas. Pero afirma que también aumentan los triglicéridos y sin embargo los ácidos grasos descienden con la lesión arterial.

Buck y **Rinitis** afirman también que los fosfolípidos aumentan con la edad, siendo el aumento fundamentalmente de esfingomielinas.

Luddy y colaboradores (22) observan la acentuación del colesterol esterificado y las esfingomielinas con la intensidad lesional; los glicéridos, fosfolípidos y colesterol libre aumentan en menor cuantía.

Hiver, Fernández-Cruz y **Poilleux** (17) señalan que en el cromatograma de los lípidos neutros del extracto de zonas ateromatosas la fracción mayoritaria corresponde al colesterol esterificado, que está en proporción mucho mayor que el libre. También en el cromatograma de los fosfolípidos la fracción predominante corresponde a las esfingomielinas.

Mientras están de acuerdo en decir que cuanto más grande es la lesión ateromatosa mayor es el aumento del colesterol en su fracción esterificada y de las esfingomielinas, las opiniones sobre las variaciones de los triglicéridos ya

no coinciden. Pues, mientras **Buck** e **Hivet** no observan cambios en los triglicéridos, **Corominas**, **Schettler** y **Luddy** defienden la existencia de un aumento de los mismos.

En nuestros resultados hemos encontrado que la fracción de los lípidos neutros más aumentada y predominante es el colesterol esterificado; que los ácidos grasos aparecen disminuidos; y que los triglicéridos y fosfolípidos también aumentan; resultados que se pueden superponer con los de **Corominas** (5).

Asimismo en el fraccionamiento de los fosfolípidos, a pesar de que en el suero la fracción más importante es la lecitina (5), las esfingomielinas son la fracción predominante en la pared arterial junto con la lecitina.

Pasemos a continuación a revisar la afectación de los diversos tipos de injertos arteriales por la enfermedad arteriosclerótica.

Crech y colaboradores (7), en un trabajo experimental con perros, observaron que los homoinjertos arteriales fueron más susceptibles al factor aterogénico de la hiperlipemia que la aorta del receptor; pues mientras que con niveles de colesterol alto (más de mil gramos) la aorta y el injerto fueron implicados en el mismo modo por las lesiones ateromatosas, cuando las cifras de colesterinemia eran más bajas sólo los homoinjertos enfermaron.

Hallazgos clínicos posteriores confirmaron estas aseveraciones.

Sin embargo, **Hardin** (15) cita una revisión de **De Bakey** de homoinjertos humanos al cabo de un año, donde no encontraron cambios arterioscleróticos ni calcificaciones.

Morgan (26), en un interesante estudio sobre autoinjertos venosos y arteriales en perros dentro de un régimen hipercolesterinémico, observa que existen lesiones ateromatosas en las arterias de severidad moderada, los autoinjertos venosos difusa y severamente afectados por la arteriosclerosis y en los autoinjertos arteriales una afectación en parche de grado medio a severo. Con estos resultados llega a la conclusión de que ambos tipos de autoinjerto son fácilmente afectados por la aterosclerosis, fundamentalmente los venosos, e incluso más susceptibles que la misma arteria.

Dillon y colaboradores (10) colocan en perros heteroinjertos arteriales de arterias bovinas modificadas enzimáticamente. Confirma en su estudio histológico la presencia de lesiones ateromatosas al cabo de varios meses. La mayoría de los injertos no desarrollaron un patrón total de arteriosclerosis, sino sólo colecciones microscópicas de material graso. Observaron también la disección de la media con organización de focos arterioscleróticos; y en cuatro animales existencia de aneurismas concomitantes con importantes lesiones ateromatosas.

Rosenberg (30, 31) injerta este mismo tipo de material en perros, y en el estudio necrópsico al cabo de siete años, sin régimen aterogénico, confirma lesiones microscópicas arterioscleróticas frecuentes y algunas formaciones macroscópicas. Sin embargo, a pesar de que los heteroinjertos arteriales de origen bovino desarrollan áreas de ateromas a largo plazo, son siempre menores que las de la arteria huésped.

Crech y colaboradores (6) estudian experimentalmente la afectación de los injertos sintéticos en régimen aterogénico. No observan diferencia alguna en el comportamiento de la prótesis de nylon y la de orlon.

Al igual que nosotros encuentran placas de ateromas en la aorta abdominal

pero nunca en la prótesis.

Apoil (2), en un estudio comparativo de varios materiales sintéticos, no observa en condiciones normales fenómenos degenerativos de tipo ateromatoso en ninguno de ellos.

Para **Heberer** (16) tampoco los injertos de material sintético estarían exentos de calcificaciones, infiltraciones lipoideas u otras alteraciones de carácter involutivo.

Macroscópicamente, no observamos placas de ateromas en los injertos. Sí en la aorta y en la anastomosis proximal; no hay que olvidar que esta área representa una zona de trauma, lo que la hace especialmente susceptible a los depósitos lipídicos (6).

En cambio, microscópicamente, encontramos infiltraciones lipoideas en forma de pequeñas espículas de colesterol.

Es preciso comentar las experiencias de otros investigadores, no sólo con prótesis sintéticas sino también con los injertos autólogos, homólogos y heterólogos.

Sterioff y **Smith** (32) comparan diversos tipos de sustitutos arteriales y llegan a la conclusión de que el material venoso autólogo es el ideal. Sin duda alguna el no resultar un tejido extraño para el organismo (21) es su principal ventaja. Sin embargo, todos coinciden también en las grandes limitaciones que tiene su uso.

Efectivamente, es sólo la vena safena interna prácticamente la que se utiliza, unas veces, las más, como puente para salvar obstrucciones arteriales de las extremidades inferiores, otras veces como parche para cerrar las arteriotomías.

La incorporación de este material con una extensa arterialización, formación de una capa de células endoteliales y de un tejido fibroso que le envuelve, se conoce ya desde hace tiempo (16, 24).

Las rupturas y dilataciones aneurismáticas son raras; es más, en ocasiones no serían tales aneurismas sino un aumento difuso de tamaño, que incluso así se adaptaría mejor al tamaño y flujo arterial (34).

Gomes (13) afirma que aproximadamente el 20 % de los pacientes no tienen una vena safena satisfactoria para la sustitución de grandes segmentos de arteria dañada, por presentar varicosidades, diámetro inadecuado, múltiples ramificaciones o simplemente por estar trombosada (19).

Los homoinjertos plantearon problemas desde el principio. Aparte de las dificultades de obtención y conservación (21), este material desarrolla una reacción de cuerpo extraño en el huésped, sufre fenómenos degenerativos como rápida pérdida del endotelio, degeneración de la túnica muscular, fragmentación de las fibras elásticas, calcificaciones y gran tendencia a formar aneurismas (15, 21, 32, 34). Hay, posteriormente, el crecimiento de una neointima y un tejido fibroso que rodea el injerto. **Hardin** (15) interpreta la intensa reacción fibroblástica como una respuesta a la proteína extraña del injerto.

De Takats y **Dillon** piensan que la reacción celular es intensa, con infiltrado de linfocitos, células mononucleares y eosinófilos y macrófagos. Sin embargo, para **Rosenberg** la reacción celular y la infiltración es mínima y el tejido fibroso neoformado llega a ser compacto y acelular. Hubo presencia de calcificaciones. No se detectaron anticuerpos al injerto en el suero a los seis años (31).

Los materiales sintéticos actuales poseen propiedades físicas extraordinariamente propicias y se caracterizan por una buena tolerancia biológica.

Las rupturas o desestructuraciones de los modernos aloinjertos son raras. Sin embargo, **Knox** (20) describe el hallazgo en la clínica humana de un injerto de dacron, en región femoral, en el cual todo era una dilatación aneurismática. No había evidencia de una alteración aislada del material, había ocurrido una pérdida completa de la conformidad del tejido. **Knox** citó en su publicación autores, como **Morris, Edwards** y **Wagner**, que obtienen resultados excelentes con los tejidos de teflon y dacron; sin embargo llea a la conclusión de que su informe debería llamar la atención sobre el posible fracaso del material sintético a largo plazo.

Nosotros no encontramos alteraciones estructurales en ninguno de los injertos de dacron estudiados.

Es, sin duda alguna, la estructura del aloinjerto lo que asegura el éxito, y la porosidad su característica más importante.

Para **Fontaine** (12), la fabricación de las prótesis oscila constantemente entre dos factores: el deseo de crear espacios entre las fibras para el paso de las células fibroblásticas y, por otra parte, el temor de hemorragias excesivas por esos poros.

Según **Wesolowski**, una porosidad insuficiente es la causa más frecuente de las transformaciones degenerativas de la prótesis.

Los aloinjertos arteriales que se fabrican en la actualidad poseen un tamaño de poro muy propicio para la inmigración de los fibroblastos. El dacron, según **Menon** (24), con su gran porosidad permite ser penetrado por el tejido fibroso, fijar la neointima y formar un bloque compacto. Los materiales sintéticos entretejidos más apretadamente muestran un crecimiento más pobre de tejido neoforado y menor adherencia a la pseudoíntima.

En el estudio histopatológico que realizamos nosotros apuntamos cómo el tejido fibroso neoforado se insinúa entre las fibras del material sintético, recubriendo tanto la superficie externa como la interna, y fijando la lámina delgada de células endoteliales que constituyen la neointima.

Algo semejante describe **Apoil** (2). Al cabo de varios meses de incorporación, el tejido conjuntivo se distribuye por y alrededor del material sintético formando una cápsula externa, unos puentes intercapsulares y una cápsula interna de tejido fibroso. **Menon** (24) observa lo mismo.

Para **Heberer** (16) un adelanto concreto en el campo del desarrollo de los injertos sintéticos radica en conseguir una mayor amplitud del poro, lo cual ha de garantizar la formación de una masa compacta y una mejor nutrición de la capa vascular interna. Esto se debe acompañar de la impermeabilidad pasajera de la prótesis para evitar la pérdida de sangre al abrir los «clamps», lográndolo quizá con la impregnación del injerto con alguna sustancia reabsorbible.

La colonización e invasión de la prótesis por el tejido fibroso la transforma en un elemento rígido. Efectivamente, los procesos cicatrizales transforman al injerto vascular, originariamente flexible, en un tubo rígido (13, 29, 34). Esta rigidez que se produce a consecuencia de la incorporación fibrosa es inevitable de flexión.

Asimismo, la elasticidad que se pretendía alcanzar mediante el ondulado del aloinjerto, casi carece de importancia en la actualidad desde que se sabe que la

rigidez que se produce a consecuencia de incorporación fibrosa es inevitable (21).

El proceso de incorporación del injerto vascular sintético en la experimentación animal es el siguiente: inmediatamente hay un depósito de una capa de fibrina en la superficie interna de la prótesis que la impermeabiliza (2, 16, 24). Esta capa de fibrina será un buen almacén para la neointima. Hay una emigración de fibrocitos desde el lecho de la aorta a través de los poros del injerto y anidan en la fina capa de fibrina; los fibrocitos que se encuentran en la superficie constituyen el rudimento del nuevo endotelio (16). Hay un tejido fibroso neoformado que sujeta firmemente la prótesis a los dos extremos de la arteria. La vascularización de la cápsula está asegurada por numerosos capilares, venulas y arteriolas. Entre las fibras del tejido conjuntivo proliferan los histiocitos y macrófagos. El estudio con luz polarizada permite ver restos de fibras sintéticas en el citoplasma de los macrófagos (2).

Apoil coincide con nosotros al opinar que la reacción histiocitaria y macrofágica ha sido mínima con el dacron, lo cual debe ser considerado como una característica muy favorable.

Parsonnet (29) describe infiltraciones de células monocelulares y una reacción de células gigantes de cuerpo extraño, así como calcificaciones microscópicas.

La neointima está constituida por una fina capa de células endoteliales adosada a una capa de fibrina. La endotelización no es completa a los seis meses (2): generalmente hay un engrosamiento de la íntima cerca de la línea de sutura (22). Nosotros también lo observamos. Es el excesivo grosor de esta neointima en relación con el diámetro de la arteria, con estrechamiento de la luz vascular y dificultad en la salida, lo que hace que prótesis sintéticas de menos de ocho milímetros tengan mal pronóstico y acaben trombosándose (8, 13, 27).

Así, pues, el injerto sintético se recubre de entrada de una ligera capa de fibrina que se adhiere a la prótesis muy laxamente, luego hay una invasión fibroblástica y por fin la endotelización (34).

Chavapil y Krajicek (4) exigen las siguientes propiedades que deben reunir las prótesis sintéticas indispensablemente:

1. La prótesis debe ser inerte y hecha de un material químico y físicamente indiferente y no irritante.
2. Debe ser duradera y estable. Su resistencia no debe decrecer después del implante.
3. La elasticidad longitudinal debe facilitar la implantación bajo una tensión similar a la del vaso normal.
4. La elasticidad transversal no debe exceder a la de la arteria, so pena de que aparezcan dilataciones aneurismáticas.
5. El grosor de la pared de la prótesis debe ser lo más reducido posible. Se favorecerá así la cicatrización de las anastomosis, el paso del endotelio vascular hacia el injerto y se evitará una reacción fibrosa hipertrófica.
6. El diámetro de las fibras debe ser lo más pequeño posible. Así se evitarán cambios metabólicos y depósitos de productos como lípidos y calcio.
7. La última cualidad es quizá la más importante, se trata de que tengan una porosidad adecuada.

Los materiales sintéticos para sustituciones arteriales que se fabrican en la actualidad, como el teflon, dacron o weavenit, si tenemos en cuenta estas propiedades, les queda aún camino por recorrer.

Conclusiones

1. La dieta aterogénica empleada se ha mostrado eficaz para producir hiperlipemias en el animal de experimentación.
2. El estudio cromatográfico y anatomopatológico de la pared arterial de la aorta abdominal, realizado a los dos años, ha demostrado evidentes lesiones de tipo arterioscleroso.
3. En las prótesis sólo se encontraron lesiones microscópicas en forma de calcificaciones y pequeñas espículas de colesterol.
4. Creemos que es necesario valorar a más largo plazo la vida de estas prótesis para observar posibles alteraciones estructurales o, más probablemente, fenómenos degenerativos aparecidos en las mismas.
5. El dacron conservó íntegra su conformidad en todos los casos, la neoíntima lo recubrió por su superficie interna y el tejido fibroso por la externa y entre las fibras del material sintético.

RESUMEN

Se implantaron en la aorta abdominal de diez perros injertos de dacron. Los animales estuvieron bajo un régimen aterogénico durante dos años; valorando la permeabilidad de la prótesis mediante aortografías seriadas.

Se realizaron estudios analíticos y cromatográficos del suero, así como cromatografía e histopatología de la pared arteria y del injerto cuando los animales fueron sacrificados pasados los dos años.

Se encontraron evidentes hiperlipemias y lesiones arterioscleróticas en la pared arterial, mientras que los fenómenos degenerativos en la prótesis fueron mínimos.

SUMMARY

Biologic problems of arterial grafts are studied. Dogs under atherogenic regime are used. Involutive disturbances, the arteriosclerotic degeneration in the prosthesis, and the neoformed tissues are studied.

BIBLIOGRAFIA

1. **Albrink, M. J. y Man, E. B.:** Serum triglycerides in coronary artery disease. «Arch. Int. Med.», 103:4, 1959.
2. **Apoil, A.; Stern, A.; Ganter, P.; Girard, P.; Sausse, A.; Bigot, J. M.; Monnier, J. P.:** Etude comparative de 4 types de prothèses artérielles, supériorité des prothèses en velours de Rhodergon. «Ann. Chir.», 27:131, 1973.
3. **Beaumont, J. L.:** Lipides et athérosclérose. «Rev. Franç. Etudes Clin. et Biol.», 9:1031, 1964.
4. **Chavapil, M. y Krajicek, M.:** Use of Collagen in the Construction of an Arterial Prostheses».

- In. J. A. Gillespie *Modern Trends in Vascular Surgery*. Butterwarths, édit., Londres, 120, 1970.
5. **Corominas, A.:** «Los lípidos. Laboratorio y clínica». Ediciones Toray, S. A., Barcelona, 1973.
 6. **Creech, O., Jr.; Jordan, J. L., Jr.; De Bakey, M. E.:** The effect of chronic hypercholesterolemia on synthetic aortic substitutes. «Surg. Gyn. Obst.», 104:385, 1957.
 7. **Creech, O., Jr.; Jordan, J. L., Jr.; De Bakey, M. E.; Overton, R. C.; Halpert, B.:** The effect of chronic hypercholesterolemia on canine aortic transplants. «Surg. Gyn. Obst.», 101:607, 1955.
 8. **Dean, R. E. y Read, R. C.:** The influence of increased blood flow on thrombosis in prosthetic grafts. «Surg.», 55:581, 1964.
 9. **De Takats, G.; Thompson, I. D.; Do'owy, W. C.:** Bovine arterial grafts: An experimental study. «Ann. Surg.», 150:1017, 1959.
 10. **Dillon, M. L.; Scott, S. M.; Vasquez, M. D.; Postlethwait, R. W.; Dart, C. H.:** Tissue response prostheses for small artery replacement. «Am. Surgeon», 38:664, 1972.
 11. **Farreras, P.:** «Medicina Interna». Editorial Marín, S. A., Barcelona, 1970.
 12. **Fontaine, R. y Fontaine, J.-L.:** Dégradations tardives des interventions restauratrices pour oblitérations artérielles des membres inférieurs. «Lyon Chir.», 67:405, 1971.
 13. **Gomes, M.; Hufnagel, C. A.; Dokumaci, O.; Conrad, P. W.:** Studies in the autogenization of prostheses for small artery replacement. «Am. Surgeon», 38:664, 1972.
 14. **González, P. y De la Higuera, J.:** Lípidos y arteriosclerosis. «Rev. Clin. Esp.», 387:132, 1973.
 15. **Hardin, C. A.:** Orlon and Nylon prostheses for abdominal aneurysms and a five year observation on experimental aortic homografts. «Ann. Surg.», 146:78, 1957.
 16. **Heberer, G.; Rau, G.; Lohr, H.-H.:** Enfermedades de la Aorta y de las Grandes Arterias». Editorial Científico-Médica.
 17. **Hivet, M.; Fernández Cruz, L.; Poilleux, J.:** «Patología y Cirugía de la Aorta Abdominal y de las Arterias Digestivas». Salvat Editores, Barcelona, 1974.
 18. **Keshishian, J. M.; Smith, N. P. D.; Adkins, P. C.; Camp, F.; Yahr, W. Z.:** Surgical techniques using the bovine arterial graft. «Surg. Gyn. Obst.», 268, 1971.
 19. **Keshishian, J. M.; Smith, N. P. D.; Adkins, P. C.; Camp, F.; Yahr, W. Z.; Hill, L.:** Clinical experience with the modified bovine arterial heterograft. «J. of Cardiovasc. Surg.», 12:433, 1971.
 20. **Knox, W. G.:** Aneurysm occurring in a femoral artery dacron prosthesis five and one-half years after insertion. «Ann. Surg.», 156:828, 1962.
 21. **Knox, W. G. y West, J. P.:** Dacron grafts in the treatment of arteriosclerotic occlusion of the superficial femoral artery. Report of seven cases. «Ann. Surg.», 145:59, 1957.
 22. **Luddy, F. E.; Barford, R. A.; Schneider, R. R.; Evans, J. D.:** Fatty acid composition of component lipides from human plasma and atheromas. «J. Biol. Chem.», 232:843, 1958.
 23. **Martorell, F.:** «Angiología. Enfermedades vasculares». Salvat Editores, Barcelona, 1972.
 24. **Menon, S. M. R.; Talwar, J. R.; Roy, S.; Golpinath, N.:** Comparison of dacron velour and venous patch grafts for arterial reconstruction. «Surg.», 73:423, 1973.
 25. **Meyer, W. W.:** Paralelismo entre la aterosclerosis experimental y humana. «Sandorama», 19: 11, 1970.
 26. **Morgan, C. V.; Bolasny, B. L.; Lanier, V. C., Jr.; Kounger, R. K.; Scott, H. W., Jr.:** Comparison of autogenous venous and aortic grafts in the abdominal aorta of dogs on an experimental atherogenic regimen. «Surg. For.», 239.
 27. **Najjar, F. B. y Gott, V. L.:** The use of small diameter dacron grafts with wall-bonded heparin for venous and arterial replacement: Canine studies and preliminary clinical experience. «Surg.», 68:1053, 1970.
 28. **Newmann, D. L.; Bowden, L. R.; Gosling, R. J.; Willie, S. D.:** Impedance of aortic bifurcation grafts. «J. Cardiovasc. Surg.», 13:175, 1972.
 29. **Parsonnet, V.; Alpert, J.; Brief, D. K.:** Autogenous polypropylene-supported collagen tubes for long-term arterial replacement. «Surg.», 70:935, 1971.
 30. **Rosenberg, N.:** The modified bovine arterial graft. «Arch. Surg.», 105:547, 1972.
 31. **Rosenberg, N.; Lord, G. H.; Henderson, J.; Bothwell, J. W.; Gaughran, E. R. L.:** Collagen arterial graft of bovine origin: seven year observations in the dog. «Surg.», 67:951, 1970.
 32. **Sterloff, S., Jr. y Smith, G. W.:** Autogenous peritoneum as an arterial patch graft. «Am. Surgeon», 38:653, 1971.
 33. **Tallon, R.; Fernandes García, J. J.; Bermudo, L.; Martínez Rangel, F.; Sánchez de la Cuesta, F.; De Lis, J.:** «Estudios sobre las Liparteriosis». Editorial Liade, Sevilla, 1969.
 34. **Tamames, S.:** «Cirugía en las obliteraciones arteriales agudas y crónicas de las extremidades inferiores». VII Congreso Nac. de Cirugía, Madrid, 1967.
 35. **Vidal-Barraquer, F.:** «Patología vascular. Fisiopatología, clínica y tratamiento». Editorial Científico-Médica, Barcelona, 1973.