

5 NOV. 1975

442354

P. - 61.490

20/K1/Lb

MEMORIA DESCRIPTIVA

Int. Cl.:

A61F, A61K

para solicitar PATENTE DE INVENCION

a nombre de SOLCO BASEL AG.

entidad suiza

establecida en Aeschenvorstadt 48, Basilea, Suiza.

por: "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE INJERTOS TRANS
PLANTADOS HETEROLOGOS DE ARTERIAS"

P.- 61.490

20/Ki/Lb

Para la sustitución de arterias defectuosas se dispone hasta ahora principalmente de los tres métodos siguientes:

- a) venas autólogas
- b) injertos de material artificial
- c) injertos de trasplante heterólogos de arterias.

Aunque los tres métodos se han apuntado ciertos éxitos, los resultados hasta ahora son no obstante insatisfactorios.

La gran ventaja de la sustitución de una arteria defectuosa por una vena autóloga es la inocuidad inmunológica, puesto que el injerto trasplantado procede del cuerpo del paciente. Sin embargo, influye desventajosa-

mente el hecho de que la vena (por ejemplo la vena safena magna) tiene que ser obtenida primero en una operación costosa, siendo necesarias incisiones múltiples, que constituyen para el paciente afectado un riesgo operatorio adicional.

Las prótesis de material sintético son asimismo inmunológicamente inócuas y además de ello pueden mantenerse en reserva. Por el contrario no son adecuadas para franquear articulaciones sin riesgos.

Los injertos transplantados heterólogos de vasos han manifestado ser valiosos debido a las siguientes propiedades. Pueden ser cosidos muy bien y se pueden producir en casi cualquier longitud y en casi cualquier diámetro necesarios. Mediante unión por costura de trozos cortos de prótesis se pueden producir sin dificultades trozos de prótesis de cualquier longitud. Puesto que para el trasplante de estas prótesis heterólogas de vasos bastan 2 a 3 cortes cutáneos, el riesgo operatorio es muy pequeño y por consiguiente las mismas son también adecuadas para pacientes gravemente expuestos (hipertensión, insuficiencia cardíaca, diabetes mellitus, etc.).

Los injertos transplantados heterólogos de arterias habían sido obtenidos hasta ahora del modo siguiente:

Las arterias, de preferencia carótidas, tomadas especialmente en la matanza de mamíferos de tamaño adecua

do, como por ejemplo terneros y animales de ganado vacuno, se colocan en solución fisiológica fría de sal común, y se transportan del matadero al laboratorio. Allí, los vasos naturales son liberados del tejido que los rodea, y los colaterales son ligados con seda.

Sin embargo, el preparado obtenido de este modo no es transplantable, puesto que el tejido muscular que se encuentra en la pared del vaso, así como las fibras elásticas, darían lugar a una reacción de antígeno-anticuerpo (reacción de rechazo). Por este motivo es necesario eliminar del vaso este tejido con efecto antígeno. Esto se logra por incubación de las arterias en una solución de enzima, en especial con una solución tamponada de ficina. La ficina es un fermento proteolítico, es decir un fermento que escinde proteínas, obtenido a partir de higos silvestres. Sin embargo, se pueden utilizar también otras enzimas proteolíticas, tales como tripsina y papaína. Es sabido de estas enzimas proteolíticas que no son capaces de degradar el armazón de colágeno de las arterias.

Por incubación de las arterias que contienen aún tejido muscular y tejido elástico, en la solución de ficina, se logra la "digestión" de estas partes de tejido con efecto antígeno. Para el proceso de digestión, como para cualquier proceso enzimático, es necesario el ajuste a pH óptimo.

Después de incubación en la solución de fermento o de ficina, las arterias de animales de ganado vacuno o de terneros tratados proteolíticamente son bien lavadas con agua destilada, y la reacción enzimática es detenida por introducción en una solución de clorito de sodio de determinada concentración, durante un tiempo definido.

El material que queda después de este tratamiento consiste en el armazón de colágeno existente "per se" en las arterias. Este tubo de colágeno, aunque ya no tiene ningún efecto antigénico, no es sin embargo adecuado para un trasplante, debido a que no posee la densificación y la estabilidad necesarias.

La densificación y la estabilidad se logran por una curtiembre de los tubos de colágeno, a saber introduciendo los tubos de colágeno durante un tiempo determinado en una solución curtiembre tamponada. Como sustancias currientes han resultado ser ventajosas hasta ahora dialdehídoalmidón, glioxal y poliacroleína, pero también pueden ser utilizadas para ello otras sustancias currientes, tales como formaldehído, dialdehídocelulosa, aldehído glutárico, y otras. El proceso que se desarrolla en tal caso se designa como "reticulación". El ensayo de la densificación se realiza sometiendo el vaso a una carga con aire a presión hasta una presión de 240 mm de Hg,

estando las arterias sumergidas en agua.

Las prótesis vasculares obtenidas de este modo son colocadas sobre varillas de vidrio de un diámetro adecuado, e introducidas en tubos de vidrio susceptibles de ser cerrados, que contienen una solución adecuada para la esterilización. La duración de la esterilización es de 14 días y ésta puede realizarse, por ejemplo, en una solución de conservación a 37°C en un armario de incubación regulado termostáticamente. Las prótesis vasculares esterilizadas permanecen en tubos de vidrio hasta su utilización.

Este modo de trabajo conocido consiste en un procedimiento estático, es decir la escisión proteolítica y la reticulación se llevan a cabo estáticamente. Procedimientos para la preparación de injertos transplantados de arterias del tipo descrito están mencionados, por ejemplo, en las memorias de patentes de los Estados Unidos 2900644 y 3093439.

En el caso de los injertos transplantados preparados de este modo no se tiene expresamente en cuenta que el colágeno, es decir la sustancia de armazón que existe todavía después de la degradación, puede llevar consigo ciertas dificultades inmunológicas, en especial si en la preparación estática habitual no ha sido eliminado todo el material inmunógeno agudo o subagudo, en especial la

reticulina.

El tratamiento estático de las arterias de partida llevaba también consigo un peligro acrecentado de una contaminación con bacterias y una infección a veces inadvertida de las arterias, con lo que la situación inmunológica resulta alterada de modo desfavorable.

Según la invención se encontró que la utilización de injertos transplantados heterólogos obtenidos a partir de arterias de animales proporciona resultados de duración tanto mejores cuanto más jóvenes sean los animales, tales como terneros, corderos, cerdos, etc., utilizados para ello.

Además, según la invención se encontró que los inconvenientes mencionados de los procedimientos conocidos para la preparación de injertos transplantados heterólogos de arterias, pueden ser evitados si la escisión proteolítica y la reticulación se llevan a cabo continuamente y/o dinámicamente, es decir se hacen pasar las arterias a través de las distintas soluciones.

La invención se refiere por consiguiente a un procedimiento para la preparación de injertos transplantados heterólogos de arterias, en el que se libera a arterias animales del tejido circundante, los colaterales ramificados son ligados con seda, el tejido muscular y las fibras elásticas son eliminadas por escisión proteolítica,

y los tubos de colágeno obtenidos son reticulados, el cual está caracterizado porque se utilizan arterias de animales lo más jóvenes que sean posibles, y porque la escisión proteolítica y la reticulación se llevan a cabo dinámicamente.

Mediante el modo de trabajo continuo o dinámico según la invención, es posible un tratamiento completo, sobre todo de la luz interior de las arterias.

Además de ello, el procedimiento dinámico permite la unión de las arterias por piezas de acoplamiento, tales como por ejemplo tubos de vidrio, que pueden unir simultáneamente un número de arterias tan grande como se quiera, y que por consiguiente garantizan una homogeneidad completa del material final.

Otra ventaja del procedimiento según la invención consiste en que las sucesivas etapas de la reacción, es decir digestión, lavado, detención de la digestión, lavado, reticulación y lavado, se pueden llevar a cabo continuamente, una detrás de otra, mediante una regulación adecuada.

Resumiendo, se puede decir que por el procedimiento según la invención, es decir por la utilización de arterias de animales lo más jóvenes que sean posibles, y por las reacciones, en especial la degradación proteolítica y la reticulación, llevadas a cabo dinámicamente,

se obtiene una prótesis que es en gran medida inmunológicamente inócua, y que por consiguiente es especialmente adecuada para la sustitución de arterias defectuosas.

Los siguientes ejemplos ilustran la invención, sin limitarla.

Ejemplo 1

Tratamiento previo de las arterias para la preparación química

Arterias (carótidas) de terneros, lo más largas posible, reunidas en el matadero, son transportadas al laboratorio en solución fisiológica de sal común (al 0,9%), enfriada con hielo. Allí se liberan del tejido circundante y se ligan con seda (000 no estéril) los colaterales no ramificados.

Las arterias así tratadas previamente son utilizadas directamente para la preparación química.

Ejemplo 2

Preparación de dialdehídoalmidón

16,2 g de fécula de maíz (peso en seco; en el caso de un material que contenga agua, una cantidad correspondientemente mayor) son agitados con 100 ml de agua destilada. A esta suspensión blanca se añade gota a gota, con agitación, durante 1 hora, una solución de 23,5 g de metaperyo

dato de sodio en 300 ml de agua destilada, y seguidamente se continúa agitando durante 18 horas a unos 25°C.

La suspensión se filtra luego a través de un embudo Büchner (filtro de succión) y el residuo se lava a fondo seis veces cada vez con 50 ml de agua destilada. El agua procedente del último lavado deberá estar libre de yodatos (papel de yoduro potásico-almidón). Por último, el residuo se lava aún con 100 ml de acetona, para impedir la formación de un producto córneo. El residuo se seca a 40°C durante 24 horas en vacío.

Rendimiento: 17,2 g (15,7 g de peso en seco).

Ejemplo 3

Este ejemplo muestra la preparación química según la invención de las arterias por el método dinámico. La disposición para la realización del procedimiento está representada en la figura 1.

Carga: 20 arterias (tratadas previamente según el ejemplo 1)

Las arterias están unidas mediante olivas de vidrio.

En un vaso de vidrio de boca ancha de 10 litros se trata previamente la solución de ficina:

7,5 litros de agua desionizada (precalentada a 30°C)

75 g de ficina = 1 %

7,5 g de L-(+)-cisteína = 1 ‰.

La solución de ficina introducida en un cilindro de vidrio se ajusta a pH 6,0 con solución 1 N de citrato de sodio, y se dispone en un baño María a 45-50°C.

A continuación, con los grifos de apriete (6) cerrados, la solución de ficina es succionada por la bomba a través de la conducción (1), y es bombeada en las tuberías de admisión a las arterias (7) y a la campana de distribución (4). Tan pronto como la campana de distribución está llena con solución de ficina, se cierra el grifo de apriete (5), se abren los grifos de apriete (6), y después se hace circular por bombeo durante 3 horas la solución de ficina, a una temperatura interna constante de 38°C.

Después se vacía por succión la solución de ficina y se suprime el baño María. Por la conducción (2) se introduce agua desionizada y se enjuaga varias veces con agua desionizada. Después del vaciado por succión del agua de lavado a través de la conducción (3), se introduce a través de la conducción (2) una solución de 93,7 g de clorito de sodio (al 80 %) en 7,5 litros de agua desionizada (correspondiente a una solución al 1 por ciento), se elimina el aire como antes, y se la hace circular por bombeo durante 18 horas a temperatura ambiente. Después se vacía esta solución de clorito de sodio por la conducción (3) y se enjuaga una vez más, como anteriormente, con agua desionizada.

Después, por la conducción (2) se introduce una solución de 97,5 g de dialdehído-almidón (preparado según el ejemplo 2) en 7.500 ml de agua (=1,35%) y tamponada a pH 8,8 con solución de bicarbonato de sodio, se la hace circular por bombeo durante 24 horas, se vacía por succión a través de la conducción (3) y se enjuaga varias veces, como anteriormente, con agua desionizada.

Después, con la bomba de un aparato de medición de la presión sanguínea, se ensaya cada arteria a una presión interna de 240 torr. Para ello la arteria hinchada se sumerge en un baño María. Los lugares no estancos son ligados, cuando es posible, con seda.

Las arterias encontradas como buenas son colocadas sobre una varilla de vidrio, son dispuestas en un tubo de vidrio cerrado a la lámpara por un extremo, éste es llenado con una solución de etanol-agua destilada (50/50 % en volumen) + 1% de óxido de propileno, y cerrado con un tapón de caucho vulcanizado y una banda aislante. Las arterias preparadas de este modo se conservan durante 14 días a 37°C en un armario de incubación regulado termostáticamente.

Ejemplo 4

Preparación química de las arterias análogamente a la del ejemplo 3, con la diferencia de que para la degrada

ción enzimática, en lugar de la solución de ficina al 1 por ciento, ajustada a pH 6,0, se utiliza una solución de tripsina al 0,2 por ciento, ajustada a pH 7,8 con tampón de fosfato-citrato.

Ejemplo 5

Preparación química de las arterias análoga a la del ejemplo 3, con la diferencia de que, en lugar de la solución al 1,3 por ciento de dialdehídoalmidón, se utiliza una solución de glioxal al 0,5 por ciento (37,5 g de glioxal en 7500 ml de agua), tamponada a pH 8,8 con bicarbonato de sodio al 10 por ciento, para la reticulación.

La presente solicitud, que corresponde a la presentada en República Federal Alemana, el 11 de Noviembre de 1974, bajo el nº P 24 53 363.9-35, se acoge a los beneficios del Artículo 51 del Vigente Estatuto sobre Propiedad Industrial.

REIVINDICACIONES

5

10 1ª.- Procedimiento para la producción de injertos
transplantados heterólogos de arterias, en el que se li-
beran arterias animales del tejido circundante, los co-
laterales ramificados son ligados con seda, el tejido
muscular y las fibras elásticas son eliminados por esci-
sión proteolítica, y los tubos de colágeno obtenidos son
15 reticulados, caracterizado porque se utilizan arterias
de animales lo más jóvenes que sean posibles, y porque
la escisión proteolítica y la reticulación se llevan a
cabo dinámicamente.

20 2ª.- Procedimiento según la reivindicación 1ª, ca-
racterizado porque se utilizan arterias de animales jó-
venes, de preferencia terneros, cuyas arterias correspon-
den al tamaño de los injertos transplantados deseados.

25 3ª.- Procedimiento según la reivindicación 1ª, ca-
racterizado porque se emplean arterias de animales re-
cientemente nacidos, en especial de terneros, corderos y cer-
dos.

4ª.- Procedimiento según las reivindicaciones 1ª a 3ª, caracterizado porque las etapas de reacción necesarias, tales como la digestión y la reticulación, se llevan a cabo continuamente, una tras otra, mediante un aparato adecuado de circulación.

5ª.- Procedimiento según las reivindicaciones 1ª a 3ª, caracterizado porque para una simplificación adicional, se hacen circular a través de cada una de las soluciones un gran número de arterias que están agrupadas una respecto a otra de un modo adecuado.

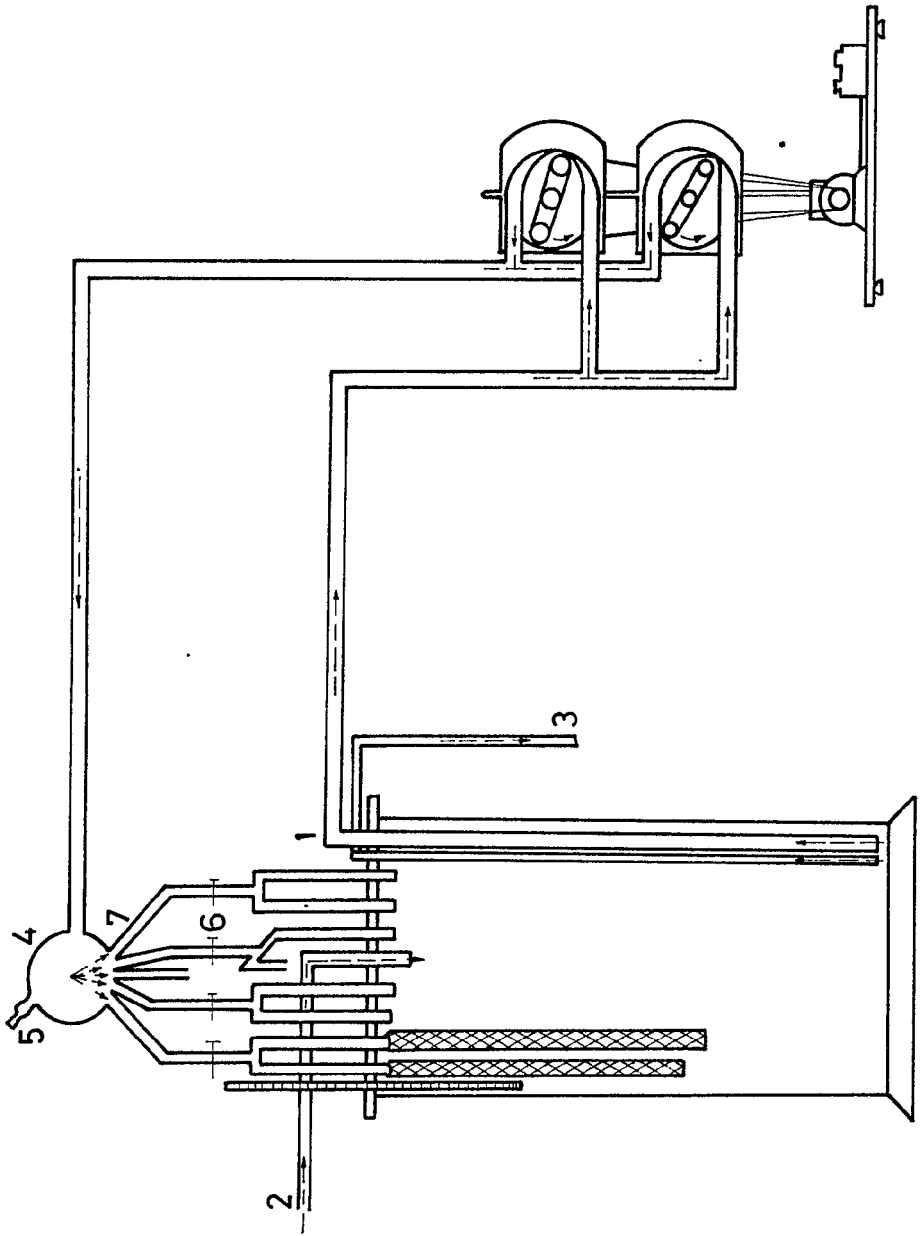
6ª.- PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE INJERTOS TRANSPLANTADOS HETEROLOGOS DE ARTERIAS.

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede, representado en los dibujos que se acompañan y para los fines que se han especificado.

Esta Memoria consta de catorce hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 5 NOV. 1975
P.A. Fernando de Elizaburu
Por Poder

FIG.1



Ferruccio de Felice
Per i. U. S. C.

FIG.1

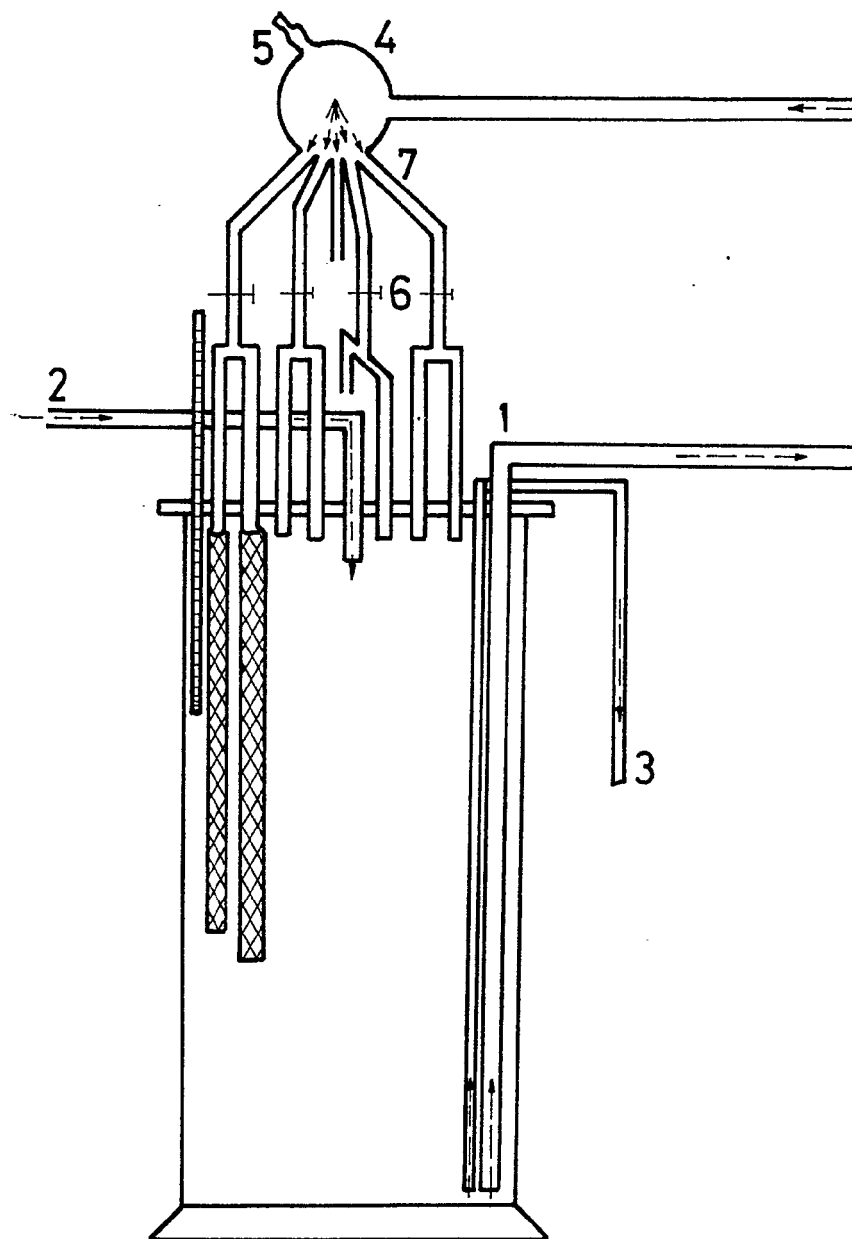
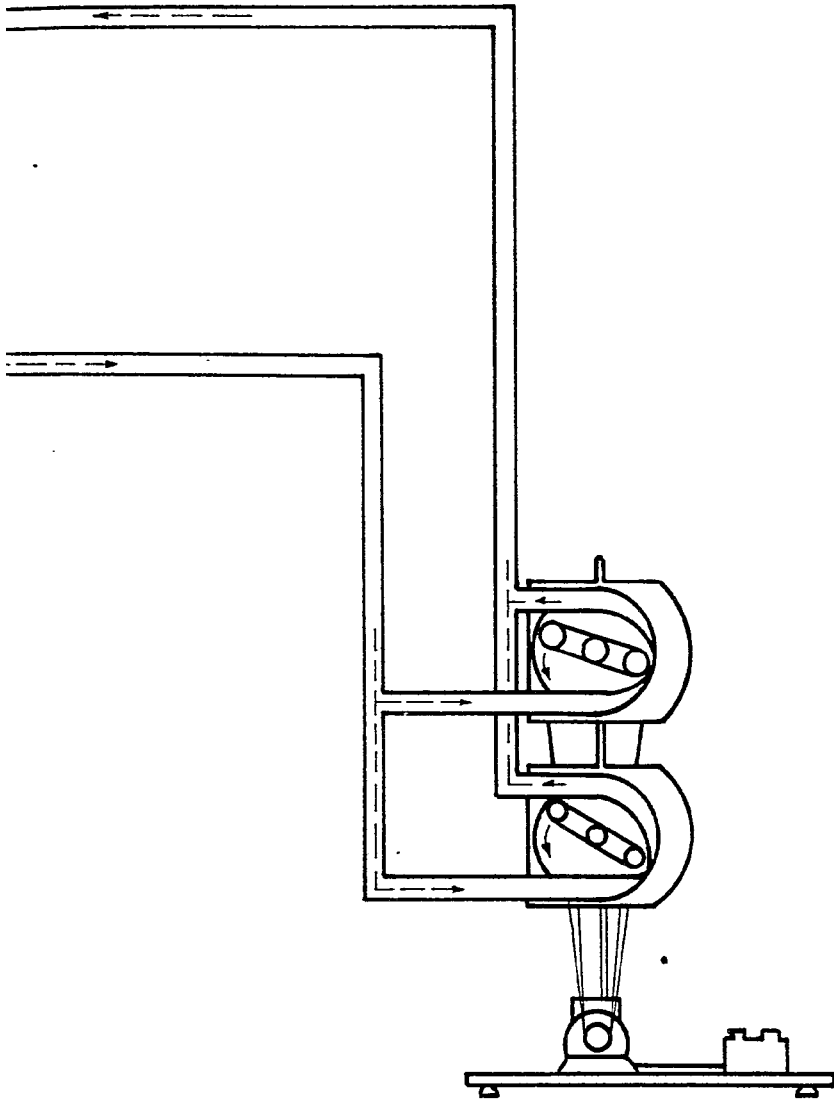


FIG.1



Fernando de Elizburu
For Record