

ORIGINAL

Caracterización y biocompatibilidad de las prótesis vasculares de poliuretano estabilizado con polidimetilsiloxano

N. García-Honduvilla^a, M.J. Gimeno^a, R. López-Sánchez^a, C. Corrales^a, G. Soldani^b, V. Samouillan^c, J. Buján^a, J.M. Bellón^a

CHARACTERIZATION AND BIOCOMPATIBILITY OF VASCULAR PROSTHESES MADE OF POLYURETHANE STABILIZED WITH POLYDIMETHYLSILOXANE

Summary. Introduction. Biomaterial research and development efforts have yielded new vascular prosthesis showing improved behaviour as small calibre grafts. Objective. The present study was designed to evaluate the biological behaviour of vascular prostheses made of polyurethane. Material and methods. Prostheses: polyurethane-polydimethylsiloxane (PU-PDMS). Characterization: fragments of PU-PDMS were examined by light and scanning electron microscopy. The electrical charge of the prosthetic material's inner surface was determined by spectral analysis. Biocompatibility: fragments (1 cm²) of PU-PDMS were grafted to the dorsal muscle of New Zealand rabbits (n= 18) and maintained for 3 or 8 months when they were subjected to morphological, immunohistochemical (anti-actin) and foreign body reaction (RAM11) analysis. Seeding: fragments (1 cm²) were seeded with endothelial cells from human umbilical vein. Follow-up times were 24, 48, 72 h and 7 days. Results. The biomaterial is of fibrous composition and has numerous pores. The inner biomaterial surface shows areas of negative charge. At three months, the prosthesis was observed to be embedded in a highly vascularised neofomed tissue that was rich in white blood and foreign body reaction cells. Eight months after grafting, the biomaterial was fully infiltrated by host tissue and enveloped by highly vascularised collagen. At 24 h of seeding, endothelialisation of the prosthetic surface was noted, with the exposure of large pores that became lined with cells at subsequent stages. Conclusions. The characteristics shown by the PU-PDMS prosthesis: structure, no rejection and good integration with host tissue in the mid- and long-term are suitable for its use as a vascular substitute. [ANGIOLOGÍA 2002; 54: 270-81]

Key words. Biocompatibility. Endothelial cells. Polyurethane. Seeding. Tissue engineering. Vascular prostheses.

Introducción

La posibilidad de utilizar materiales protésicos sintéticos puede considerarse como uno de los grandes avances en el terreno de la cirugía cardiovascular. Los primeros

implantes realizados en la década de los años cincuenta [1], y sobre todo sesenta [2], contribuyeron de una forma extraordinaria a cambiar el rumbo de algunas enfermedades vasculares, como la arteriosclerosis. En los años setenta, la aparición de

^a Departamento de Ciencias Morfológicas y Cirugía. Facultad de Medicina. Universidad de Alcalá. Alcalá de Henares, Madrid, España. ^b Laboratory of Biomaterials and Graft Technologies. Hospital G. Pasquinuci. Massa, Italia. ^c Laboratoire de Physique des Polymères. INSERM. Toulouse, Francia.

Correspondencia: Dr. Natalio García-Honduvilla. Departamento de Ciencias Morfológicas y Cirugía. Facultad de Medicina. Universidad de Alcalá. Ctra. N-II, km 33,600. E-28871 Alcalá de Henares (Madrid). Fax: +34 918 854 885. E-mail: natalio.garcia@uah.es

Agradecimientos. Este trabajo se ha patrocinado mediante un proyecto europeo Biomed Project GRDI-1999-10019.

© 2002, ANGIOLOGÍA

un mayor número de materiales, como el politetrafluoroetileno expandido (ePTFE) [3], abrió más el abanico de posibilidades para la lucha contra la enfermedad vascular obstructiva crónica. La tolerancia biológica de estos biomateriales es buena, pero el implante de prótesis de pequeño y mediano calibre conduce, en un alto porcentaje de casos, al fracaso, y no puede cumplirse el objetivo de mantener la permeabilidad vascular de la zona enferma [4]. Sin embargo, tanto el ePTFE como el polietilentereftalato (Dacron) todavía son los biomateriales más utilizados hoy en día [5]. Actualmente, el desafío consiste en diseñar una estructura tubular de 1-4 mm de diámetro interno que pueda mantener la permeabilidad en territorios de bajo flujo sanguíneo. La composición química, el método de fabricación, la complianza, la porosidad y la capacidad de biorreabsorción parecen influir en la formación de la neointima. La porosidad de la pared parece desempeñar un papel crítico en el proceso de cicatrización y, por lo tanto, es un factor clave en el éxito a largo plazo de las prótesis vasculares sintéticas de pequeño calibre. Su aplicación depende de sus condiciones mecánicas, térmicas, eléctricas y químicas, con el objetivo de obtener el mejor rendimiento del material en una determinada aplicación, tanto *in vitro* como *in vivo* [6]. Las tensiones residuales y dinámicas, la temperatura y la resistencia o alteración ante exposiciones químicas y físicas son factores ambientales que influyen en cada fase de la vida del polímero y afectan a su rendimiento [7].

En los últimos años, las investigaciones se encaminan a la obtención de prótesis vasculares que sustituyan a las ya exis-

tentes y que mejoren las perspectivas de su utilización en la clínica humana. De este modo, han proliferado los estudios sobre la posible utilización, como prótesis vasculares, de distintos tipos de materiales biocompatibles. Por ello, en la actualidad, se prueban nuevos tipos de prótesis, como las fabricadas a partir de diferentes compuestos de poliuretano [6,8-11]. Sin embargo, la utilización de estas prótesis de poliuretano no está exenta de polémica. La supuesta degradación de este tipo de biomaterial y la aparición de efectos colaterales, como la reacción a cuerpo extraño [10] y la aparición de hemangiosarcomas a partir del octavo mes del implante [12], ponen en entredicho la viabilidad de estos biomateriales para su uso biomédico, aunque estos extremos no los compartan la mayoría de los autores; el tratamiento del poliuretano con diversos compuestos disminuye considerablemente la aparición de células blancas y mejora notablemente la biocompatibilidad del mismo, sin que se describan efectos secundarios en animales de experimentación. Por todo ello, el objetivo de nuestro grupo en el presente trabajo ha sido el estudio de las características morfológicas y fisicoquímicas y del comportamiento biológico, *in vivo* e *in vitro*, de las prótesis vasculares de poliuretano estabilizado con polidimetilsiloxano (PU-PDMS).

Material y métodos

Caracterización del material protésico vascular

Las características de la superficie del biomaterial se determinaron mediante

N. GARCÍA-HONDUVILLA, ET AL

técnicas de microscopía óptica y electrónica de barrido. Para los estudios mediante microscopía óptica se fijó un pequeño fragmento de prótesis en etanol al 70% y se incluyó en metil metacrilato para obtener cortes de 10 μm de espesor.

Para los estudios mediante microscopía electrónica de barrido, las prótesis se fijaron en glutaraldehído al 3% (2 h) y se lavaron posteriormente en tampón Millonig. Más tarde, las muestras se deshidrataron en una serie gradual de etanol, sometidas a punto crítico (Polaron E-3000) para su completa desecación, y se metalizaron con una capa de oro/paladio. Las muestras se observaron en un microscopio electrónico de barrido Zeiss DM-950.

Determinación de la carga eléctrica de la superficie protésica

Para la determinación de la carga eléctrica, la prótesis se cortó en pequeños discos de 0,35 mm de espesor y 50 mm² de área. Cada muestra se colocó entre dos electrodos. Se insertó una fina película de PTFE (20 μm de espesor) entre el electrodo inferior y la muestra para bloquear el mismo (Fig. 1).

Antes de comenzar el experimento, las muestras fueron tratadas con helio seco para asegurar un buen intercambio térmico y evitar la rehidratación de las mismas.

A continuación, el sistema se conecta a un amperímetro de alta sensibilidad (Keithley 642, con una sensibilidad de 10^{-17} A). Se registró la liberación de cargas en un intervalo de temperatura comprendido entre 0 y 60 °C, con un aumento lineal de 7 °C/min.

Las muestras se interpusieron en un campo eléctrico estático E_p (570 V/mm), a

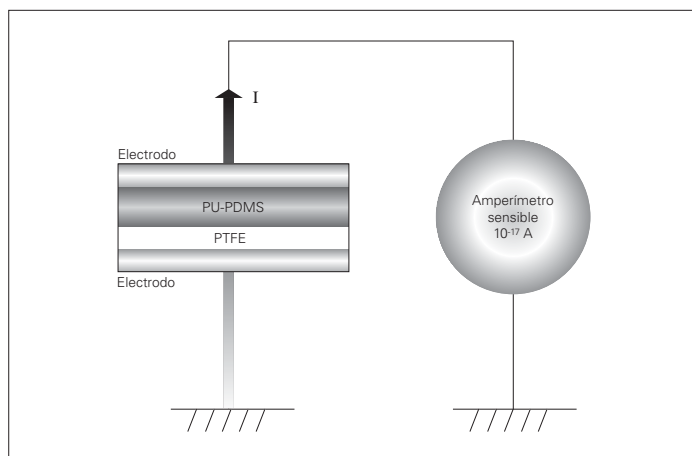


Figura 1. Esquema del dispositivo de medida de la carga eléctrica del biomaterial.

una determinada temperatura T_p durante 2 min, para favorecer la orientación de las distintas cargas. Se estima el fondo al disminuir la temperatura hasta que $T_0 < T_p$. Finalmente, se elimina el campo eléctrico y se conecta el sistema al amperímetro. A continuación, se graban los datos de la corriente de despolarización inducida por el incremento lineal de la temperatura ($q = 7$ °C/min) en función de la variación de la misma, y se obtiene así el espectro de relajación de la muestra.

Biocompatibilidad

Para valorar la biocompatibilidad de la prótesis, se implantaron pequeños fragmentos (2 cm) de ésta en conejos blancos de Nueva Zelanda, muscularmente, y se mantuvieron durante 3 y 8 meses. Transcurrido este período, se extrajeron las prótesis junto al tejido circundante, y se procesaron para estudios de microscopía óptica (hematoxilina/eosina, tricómico de Masson y Sudán negro B/rojo neutro) y de reacción a cuerpo extraño.

Para determinar la naturaleza de las células que colonizaban la prótesis y el



Figura 2. Estructura de la superficie de las prótesis PU-PDMS vista por microscopía óptica. Destacan las dimensiones de los poros (marcados con una línea) ($\times 10$).

tejido circundante, realizamos un análisis inmunohistoquímico específico para la detección de fibras de actina características de mioblastos y fibroblastos, y la reacción de cuerpo extraño se llevó a cabo con un anticuerpo específico para macrófagos de conejo RAM11 (Dako M-623).

Cultivo celular

Se utilizaron células endoteliales procedentes de venas umbilicales humanas. La extracción se realizó mediante tratamiento enzimático de la superficie luminal de los vasos con colagenasa CLS de tipo I al 0,1% en MEM (del inglés, *minimal essential medium*). Tras su extracción, las células se cultivaron en frascos T-25 (25 cm^2) hasta la formación de una monocapa confluyente sobre su superficie. El medio utilizado fue el Medio-199 con suplemento de antibióticos, antifungicidas, suero fetal bovino y factor de crecimiento endotelial. Una vez alcanzada la confluencia, las células se subcultivaron en frascos de cultivo T-75 (75 cm^2).

La superficie protésica se incubó durante 1 h con fibronectina ($20 \mu\text{g/mL}$), para asegurar la adhesión de las células al biomaterial. Transcurrido este tiempo, se retiró la fibronectina y se sembraron las células endoteliales procedentes del primer subcultivo, a razón de $5 \times 10^4 \text{ cél./cm}^2$.

Los tiempos de estudio fueron 24 h, 48 h, 72 h y 7 días, tras los cuales las muestras se fijaron en glutaraldehído al 3% durante 24 h y, posteriormente, se procesaron para su observación mediante microscopía electrónica de barrido.

Resultados

Caracterización del material protésico vascular

La prótesis está formada por capas concéntricas paralelas, dispuestas perpendicularmente al eje longitudinal de ésta. Su composición es fibrilar, y destaca la presencia de numerosos poros de diferentes tamaños y formas (Fig. 2).

El estudio por microscopía electrónica de barrido de las prótesis de PU nos permite observar una morfología circular muy estable, como consecuencia del alto grado de memoria que presenta este tipo de biomaterial. En una visión panorámica, determinamos el espesor de la pared de la prótesis ($1,09 \pm 0,19 \text{ mm}$), así como sus diámetros interno ($4,11 \pm 0,32 \text{ mm}$) y externo ($5,15 \pm 0,20 \text{ mm}$).

Existen diferencias estructurales entre la superficie interna y la externa, de forma que la superficie luminal presenta una estructura laxa, altamente desorganizada y fibrosa, con poros de distintos tamaños y formas, que no llegan a formar verdaderos

N. GARCÍA-HONDUVILLA, ET AL

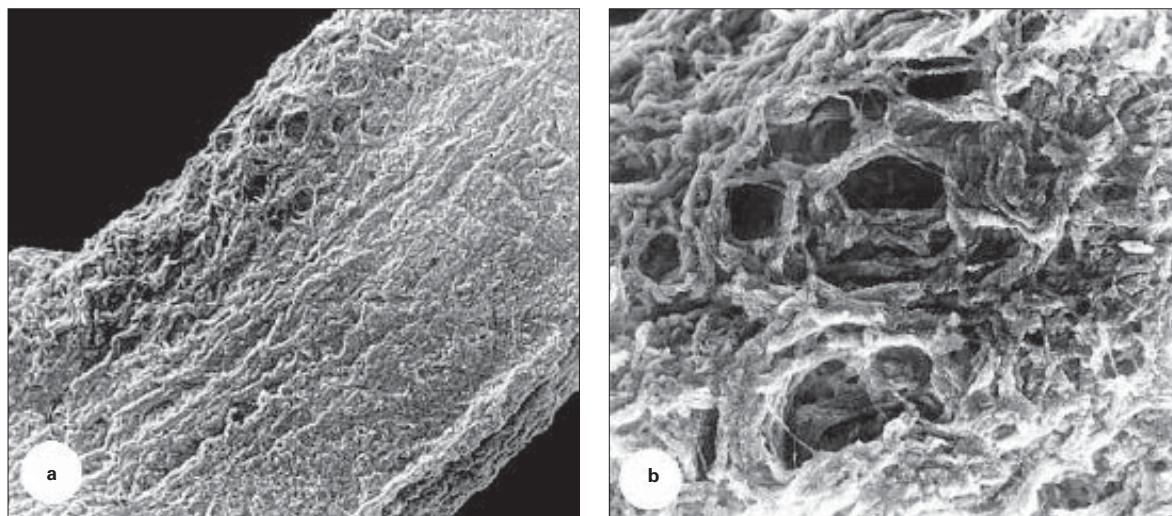


Figura 3. a) Sección transversal de la pared de la prótesis, en la que se diferencian las estructuras de la cara interna y externa (MEB $\times 50$); b) Detalle de la porosidad de la superficie luminal (MEB $\times 500$).

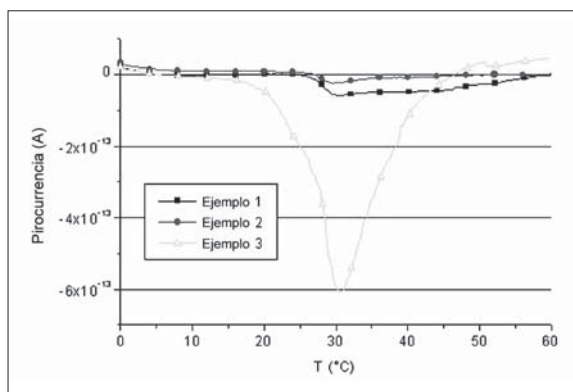


Figura 4. Representación gráfica del espectro eléctrico de la superficie interna de la prótesis.

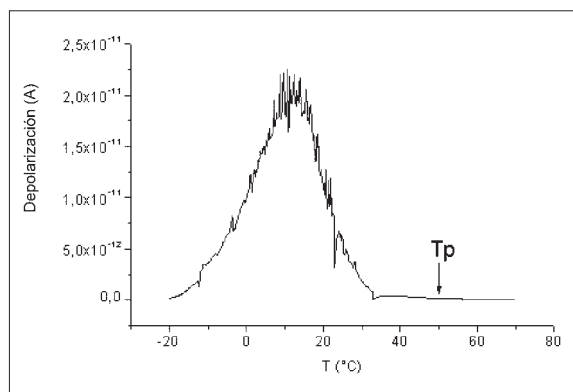


Figura 5. Espectro de relajación de PU-PDMS a 50 °C.

canales a lo largo de todo el espesor de la pared. A medida que nos acercamos a la superficie más externa, la pared se hace más compacta a la pared de la prótesis, y aparece una estructura menos fibrosa y más homogénea (Figs. 3a y b).

Determinación de la carga eléctrica de la superficie protésica

Las determinaciones espectrales muestran la existencia de una carga negativa, en todas las muestras probadas, de entre 20 y 60 °C.

Esta carga negativa indica la liberación de las cargas existentes en la cara superior del sistema, que se corresponde con la cara interna de las prótesis de poliuretano (Fig. 4).

Las mediciones realizadas en condiciones isotérmicas a 25 °C permiten registrar una ligera concentración de cargas negativas, que aumenta a lo largo del tiempo. Estas mediciones confirman la existencia de cargas negativas en la superficie interna del biomaterial, que se liberan lentamente en el tiempo.

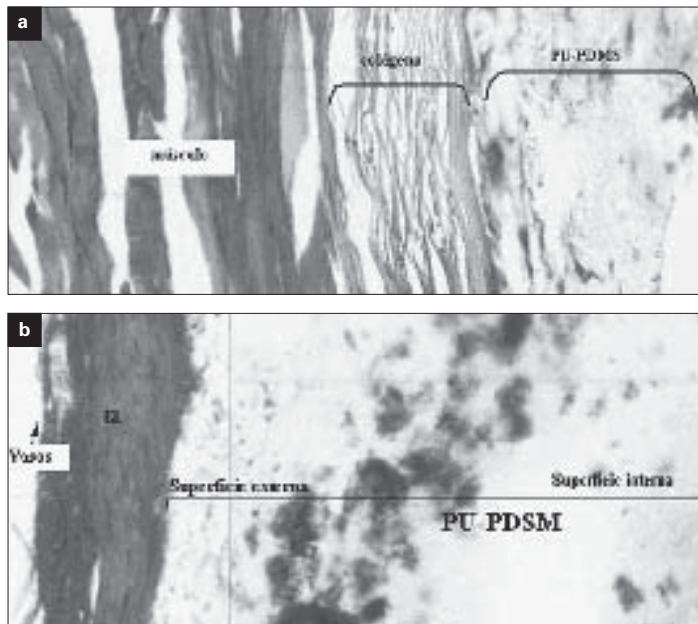


Figura 6. Vista panorámica de la integración de la prótesis: a) Tres meses (trícromo de Masson $\times 630$); b) Ocho meses (trícromo de Masson $\times 400$).

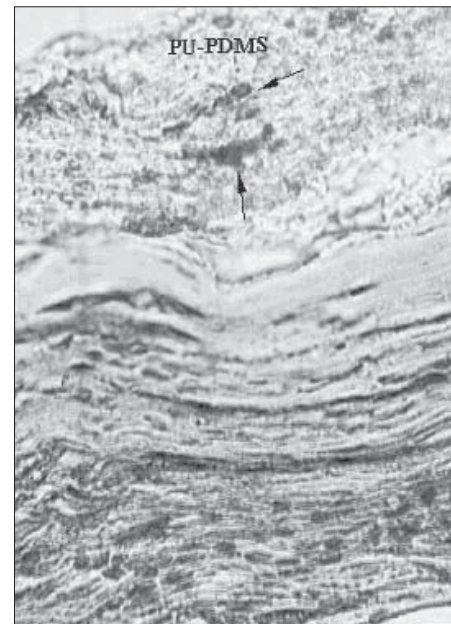


Figura 7. Determinación inmunohistoquímica de la presencia de macrófagos (flechas) a los tres meses del implante (RAM11 $\times 400$).

En el espectro de relajación aparece un pico correspondiente a los segmentos dipolares presentes en el polímero y observados entre 10 y 20 °C (Fig. 5).

Biocompatibilidad

Integración del biomaterial

A los tres meses, los estudios histológicos revelan la integración del biomaterial en un tejido neoformado altamente vascularizado y rico en células blancas y células típicas de una reacción a cuerpo extraño. Aparecen fibras de colágeno dispuestas de forma ordenada, concéntrica, y paralelas a la superficie externa de la prótesis vascular de PU (Fig. 6a).

Puede observarse un denso tejido conectivo en la cara luminal, en la que también podemos determinar la existencia de vasos neoformados y de células inflamatorias. En esta superficie, también puede-

mos apreciar un infiltrado de células blancas, fibroblastos y células musculares.

En la superficie externa aparece una fina barrera celular entre ésta y el tejido hospedador. Esta fina capa se caracteriza por la presencia de células blancas y por la aparición de neovasos. En aquellas zonas donde la barrera celular es más extensa, aparecen áreas de infiltración celular similares a las observadas en la superficie interna del biomaterial. Sin embargo, en este estadio la infiltración celular de la prótesis es, aproximadamente, la tercera parte de la superficie total de la pared de la prótesis.

A los ocho meses, se puede observar la total integración de la prótesis en el tejido muscular. La prótesis aparece completamente rodeada de una banda de colágeno densa, con haces paralelos a la superficie protésica y una gran vascularización. Esta banda de colágeno separa la prótesis del

.....
N. GARCÍA-HONDUVILLA, ET AL

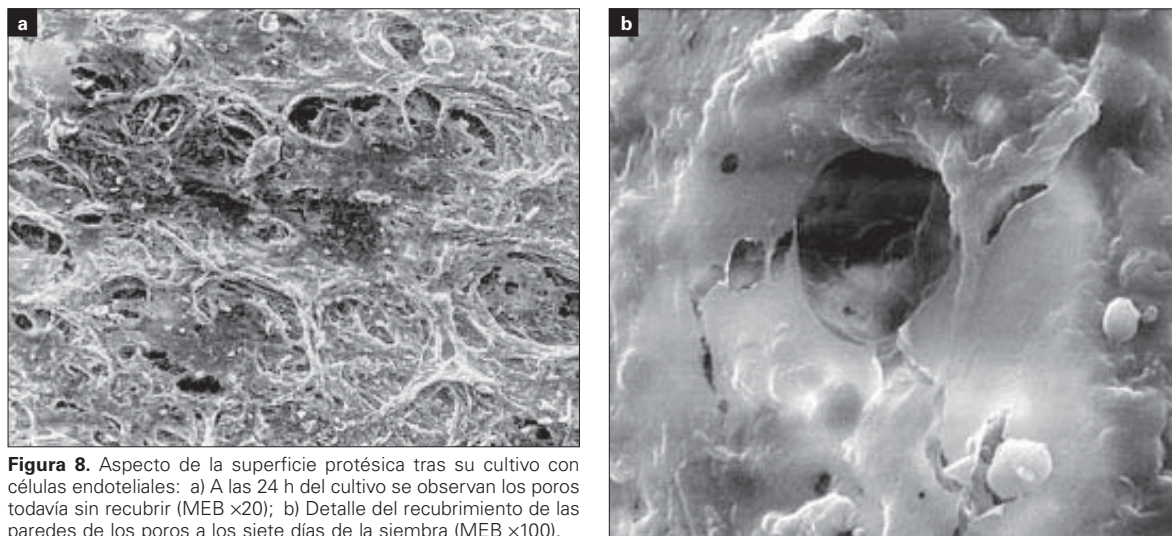


Figura 8. Aspecto de la superficie protésica tras su cultivo con células endoteliales: a) A las 24 h del cultivo se observan los poros todavía sin recubrir (MEB $\times 20$); b) Detalle del recubrimiento de las paredes de los poros a los siete días de la siembra (MEB $\times 100$).

músculo. La interposición de la prótesis muestra una mayor estabilización en la síntesis de tejido conectivo que la observada en las prótesis implantadas durante tres meses (Fig. 6b).

El lumen protésico contiene restos de reacción inflamatoria, y es visible un núcleo de células blancas rodeado de tejido conectivo laxo. También se puede ver un infiltrado celular en la totalidad de la prótesis y una cápsula que envuelve al implante formada por colágeno y diferentes poblaciones celulares (fibroblastos y células endoteliales).

Identificación celular y reacción de cuerpo extraño

A los tres meses del implante, detectamos sobre la superficie protésica la presencia de células que muestran características compatibles con monocitos/macrófagos. Estos hechos se ratifican mediante el marcaje con el anticuerpo RAM11, y se confirma la presencia de estas células en el infiltrado celular descrito con anterioridad (Fig. 7).

La utilización del anticuerpo antipan actina nos permite determinar la presencia de fibroblastos que han adquirido características contráctiles, denominados miofibroblastos. Estas células poseen características intermedias entre células musculares y fibroblastos; de ahí que la mayor población corresponda a zonas de contacto entre el tejido receptor (muscular) y el tejido de neosíntesis (conectivo).

Tras ocho meses de implante, la reacción de cuerpo extraño prácticamente ha desaparecido. No obstante, detectamos la presencia de macrófagos, de forma aislada, en dos regiones principales: en el lumen de la prótesis, donde existía a los tres meses una gran población de células blancas, y en el área correspondiente al tercio externo de la prótesis implantada (zona próxima a la interfase tejido conectivo-prótesis).

Cultivo celular

A las 24 horas del cultivo, en una visión panorámica, observamos una superficie completamente endotelizada que sólo deja

al descubierto poros de gran tamaño que las células endoteliales no pueden recubrir (Fig. 8a). En los estadios posteriores se confirman estos hechos. Así, a las 48 h, podemos apreciar la formación de una monocapa que tapiza completamente la superficie protésica, y llega a recubrir la mayor parte de los poros existentes en el biomaterial.

Al contrario de lo que sucede en otros biomateriales, en la prótesis motivo de este estudio observamos cómo a tiempos más largos (3 y 7 días), la monocapa continúa estable sobre el biomaterial. Con grandes aumentos se puede apreciar cómo las células comienzan a penetrar por los poros de mayor tamaño y tapizan las paredes de los mismos (Fig. 8b).

Discusión

A pesar de los innumerables esfuerzos realizados durante las últimas décadas, hoy en día continúa la búsqueda de una prótesis ideal que garantice el éxito de la sustitución arterial en territorios de pequeño calibre, donde la velocidad del flujo es baja. En palabras de Dardik y Greisler, la prótesis ideal debería ser resistente a la hiperplasia intimal, a la biodegradación y a la trombosis local. Además, no deberían provocar respuestas inmunológicas o inflamatorias desfavorables e, incluso, deberían incluir una cierta resistencia a la infección y una buena disponibilidad para interactuar con la vasculatura del receptor, lo que requeriría una cierta característica de interactividad que supliese el término 'inerte' [13].

Ante semejantes tesisuras, es evidente que una nueva visión ha emergido en el

campo de los implantes médicos para la fabricación de órganos completos, basados en un mayor conocimiento científico de los materiales y de sus interacciones con el cuerpo. Los progresos en la caracterización de materiales avanzados y la síntesis racional de otros polímeros, junto con los avances moleculares en el conocimiento de las respuestas biológicas, han sentado las bases para el diseño e implante de distintos tipos de biomateriales.

Caracterización protésica

La utilización de poliuretano para la fabricación de dispositivos de uso biomédico se extiende cada día más. Los poliuretanos son un tipo de elastómeros termoplásticos compuestos por secuencias cortas y rígidas de uretanos o urea, conectadas por cadenas largas y flexibles de poliéster [10], cuyo proceso de fabricación parece influir directamente sobre su estructura [14] y comportamiento biológico. Algunos autores han observado que la porosidad y rugosidad de este tipo de biomateriales parece favorecer la adhesión celular, al tiempo que parece influir sobre la activación de los macrófagos, y por lo tanto, sobre la integración y biocompatibilidad de este material protésico [14].

La naturaleza irregular y porosa de las prótesis PU-PDMS, utilizadas en este trabajo, convierten a la misma en una candidata ideal para la colonización celular. Sin embargo, esta facilidad de colonización puede significar un importante problema, al interponer estas prótesis en contacto directo con el flujo sanguíneo, principalmente en zonas distales, donde su velocidad es baja. En estas condiciones, las células sanguíneas podrían penetrar a través de los poros y retenerse en el interior de la pared

.....
N. GARCÍA-HONDUVILLA, ET AL

del conducto, y provocar la activación plaquetaria y de la cascada de coagulación que darían lugar al fracaso del injerto por problemas trombóticos. Sin embargo, en trabajos previos realizados sobre arteria aorta de rata se observó un buen comportamiento de estas prótesis tras ocho semanas de implante [6]. Estos resultados serían fácilmente explicables si tenemos en cuenta la electronegatividad presente en la superficie interna del biomaterial, como se refleja en el presente trabajo. La existencia de cargas negativas en la superficie luminal de las prótesis vasculares parece ser la responsable de impedir la adhesión de células sanguíneas a la misma.

El estado de relajación observado en nuestro estudio podría atribuirse a la manifestación dieléctrica de la transición a cristal del material protésico, mientras que, en condiciones fisiológicas, éste se encuentra en estado elástico. Este cambio de estado estaría en perfecta armonía con la propia estructura química del poliuretano, ya que éste se forma por un segmento cristalino (uretano) y por segmentos blandos y amorfos (cadenas de poliéster) [10].

Biocompatibilidad

La magnitud y duración del proceso inflamatorio tiene un impacto directo en la estabilidad y compatibilidad de los biomateriales, y llega a afectar a la eficacia de los dispositivos biomédicos. Los leucocitos son un tipo celular directamente relacionado con los procesos inflamatorio e inmune, y su respuesta a la presencia de biomateriales es fundamental para comprender las interacciones entre el material y el hospedador. Los leucocitos reconocen las proteínas absorbidas en la superficie del biomaterial y

pueden adherirse a la superficie vía moléculas de adhesión. Esta función se modularía por la presencia de citocinas activas y factores de crecimiento. Seguidamente, el proceso de activación de monocitos-macrófagos y la fusión para formar células gigantes de cuerpo extraño multinucleadas participan en la degradación de los biomateriales. Y por último, los leucocitos activados pueden liberar citocinas, factores de crecimiento y otros agentes bioactivos, para modular la función de otros tipos celulares presentes en el proceso inflamatorio [10].

En nuestros resultados describimos cómo la prótesis PU-PDMS se integra totalmente en el tejido circundante a los tres meses de su implante; se evidencia un tejido altamente vascularizado, con abundante presencia de células blancas, típicas de una reacción inflamatoria, células gigantes de cuerpo extraño, una matriz colágena muy prominente y células compatibles con miofibroblastos, que llegan a colonizar la prótesis y ocupar un tercio del espesor de su pared. Estos resultados coinciden con los obtenidos por otros autores sobre este mismo tipo de biomaterial [10,14,15]. Esta respuesta del hospedador ante el biomaterial parece relacionarse íntimamente con la propia estructura del mismo, especialmente con su porosidad y su composición química [16-19]. Sin embargo, hemos podido observar cómo esta reacción de cuerpo extraño es precedida en el tiempo y prácticamente desaparece a los ocho meses del implante, en donde sólo podemos descubrir algunos macrófagos activados en la superficie luminal y en el tercio exterior de la prótesis implantada.

En ningún momento hemos observado signos de degradación del polímero ni

hemos detectado efectos secundarios no deseados, como la aparición de calcificaciones y de afecciones tumorales en los animales receptores del implante de PU-PDMS; estos resultados se contraponen con los obtenidos por otros autores [12,20], probablemente debido a que éstos utilizan prótesis de poliuretano puro de alto peso molecular, en contraste con los utilizados por nuestro equipo y por otros autores, que hacen referencia a la ausencia de calcificaciones y tumores [21-23].

Cultivo celular

Como hemos descrito, la porosidad y la composición química de las prótesis de poliuretano desempeñan un papel fundamental en su comportamiento biológico. Estos factores influyen, no sólo en la biocompatibilidad de las prótesis, sino también en el comportamiento de las células sembradas sobre su superficie. Así, en los resultados describimos una buena endotelización de la superficie luminal tras 24 h de cultivo, solamente interrumpida en las zonas de mayor porosidad, al igual que sucede en las prótesis de ePTFE, como se ha descrito en trabajos previos [24,25].

Al contrario de lo que sucede con otros biomateriales, en los que la elevada porosidad sólo puede salvarse mediante la interposición de una matriz entre la superficie protésica y la capa celular [26], en el

caso de las prótesis PU-PDMS, la propia estructura del biomaterial permite que en estadios más avanzados (3, 7 días), las células endoteliales sean capaces de colonizar y tapizar las paredes de los poros de mayor tamaño, y conferir a la monocapa formada una estabilidad que no se observa en otros biomateriales tras una semana de siembra, a no ser que se interponga una matriz de naturaleza biológica [27,28].

Esta capacidad de las prótesis de poliuretano para formar una monocapa estable que perdure a lo largo del tiempo ha sido descrita por otros autores, que han observado que las prótesis de poliuretano reducen significativamente la densidad de siembra y el tiempo de incubación para producir una monocapa sobre la superficie del biomaterial [29]. Incluso se ha detallado un mejor comportamiento de estas prótesis bajo condiciones de flujo, y se ha observado una mayor resistencia a las fuerzas de cizallamiento en prótesis de poliuretano sembradas, en comparación con prótesis de PTFE [30-32].

En conclusión, las prótesis PU-PDMS presentan características adecuadas para utilizarse como sustitutos vasculares, gracias a su estructura, ausencia de rechazo, buena integración a corto y medio plazo y porque poseen unas características idóneas para su rápida endotelización en condiciones *in vitro*.

Bibliografía

1. Voorhees AB, Jaretzki A, Blakemore AH. The use of tubes constructed from vinyon N cloth in bridging arterial defects: a preliminary report. *Ann Surg* 1952; 135: 332-6.
2. Mackenzie DC, Loewenthal J. Endothelial growth in nylon vascular grafts. *Br J Surg* 1960; 48: 212-7.
3. Campbell CD, Goldfarb D, Detton DD, Roe R, Goldsmith K, Diethrich EB. Expanded polytetrafluoroethylene as a small artery substitute. *ASAIO Trans* 1974; 20: 86-90.
4. Herring M, Gardner A, Peigh P, Madison D, Baughman S, Brown J, et al. Patency in canine inferior vena cava grafting: effects of graft

.....
 N. GARCÍA-HONDUVILLA, ET AL

- material, size and endothelial seeding. *J Vasc Surg* 1984; 1: 877-87.
5. Falkenback D, Lundberg F, Ribbe E, Ljungh A. Exposure of plasma proteins on Dacron and ePTFE vascular graft material in a perfusion model. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2000; 19: 468-75.
 6. Soldani G, Panol G, Sassen HF, Goddar MB, Galletti PM. Small diameter polyurethane-polydimethylsiloxane vascular prostheses made by spraying, phase-inversion process. *J Mat Sci Mat Med* 1993; 3: 106-13.
 7. Gómez-Barrena E, Puértolas Rafaels JA. Polietileno. In Vallet Regi M, Munuera L, eds. *Biomateriales: aquí y ahora*. Dykinson; 2000. p. 31-43.
 8. Marois Y, Sigot-Luizard MF, Guidoin R. Endothelial cell behavior on vascular prosthetic grafts: effect of polymer chemistry, surface structure, and surface treatment. *ASAIO J* 1999; 45: 272-80.
 9. Jeschke MG, Hermanutz V, Wolf SE, Köveker GB. Polyurethane vascular prostheses decreases neointimal formation compared with expanded polytetrafluoroethylene. *J Vasc Surg* 1999; 29: 168-76.
 10. Kao WJ. Evaluation of leukocyte adhesion on polyurethanes: the effects of shear stress and blood proteins. *Biomaterials* 2000; 21: 2295-303.
 11. Van Wachen PB, Hendriks M, Blaauw EH, Dijk F, Verhoeven MLPM, Cahalan PT, et al. (Electron) microscopic observations on tissue integration of collagen-immobilized polyurethane. *Biomaterials* 2002; 23: 1401-9.
 12. Kirkpatrick CJ, Alves A, Köhler H, Kriegsmann J, Bittinger F, Otto M, et al. Biomaterial-induced sarcoma. A novel model to study preneoplastic change. *Am J Pathol* 2000; 156: 1455-67.
 13. Dardik H, Greisler H. History of prosthetic grafts. *Semin Vasc Surg* 1999; 12: 1-7.
 14. Lin DT, Young TH, Fang Y. Studies on the effect of surface properties on the biocompatibility of polyurethane membranes. *Biomaterials* 2001; 22: 1521-9.
 15. Young TH, Lin DT, Chen LY. Human monocyte adhesion and activation on crystalline polymers with different morphology and wettability in vitro. *J Biomed Mater Res* 2000; 50: 490-8.
 16. Clowes AW, Zacharias RK, Kirkman TR. Early endothelial coverage of synthetic arterial grafts: porosity revisited. *Am J Surg* 1987; 153: 501-4.
 17. Brauker JH, Carr-Brendel VE, Martinson LA, Crudele J, Johnston WD, Johnson RC. Neovascularization of synthetic membranes directed by membrane microarchitecture. *J Biomed Mater Res* 1995; 29: 1517-24.
 18. Sieminski AL, Gooch KJ. Biomaterial-microvasculature interactions. *Biomaterials* 2000; 21: 33-2241.
 19. Nygren H, Braide M, Karlsson C. Different kinetics of the respiratory burst response in granulocytes, induced by serum from blood coagulated in contact with polymers materials. *Biomaterials* 2000; 21: 173-82.
 20. Park JC, Song MJ, Hwang YS, Suh H. Calcification comparison of polymers for vascular graft. *Yonsei Med J* 2001; 42: 304-10.
 21. Joshi RR, Frautschi JR, Phillips RE Jr, Levy RJ. Phosphonated polyurethanes that resist calcification. *J Appl Biomater* 1994; 5: 65-77.
 22. Alferiev I, Vyavahare N, Song C, Connolly J, Hinson JT, Lu Z, et al. Bisphosphonate derivatized polyurethanes resist calcification. *Biomaterials* 2001; 22: 2683-93.
 23. Buruiana T, Spridon D, Buruiana EC, Hefco V, Uglea CV. Polyurethanes based on dihydroxamic acids. Synthesis, chemical characterization, and biological activity. *J Biomater Sci Polym Ed* 1999; 10: 1159-70.
 24. Bellón JM, Buján J, García-Honduvilla N, Navlet J, Hernando A, Turégano F. Porcine endothelial cell seeding onto polytetrafluoroethylene (PTFE): a comparative study with grafts of different porosities. *Res Surg* 1993; 5: 7-12.
 25. Contreras MA, Quist WC, LoGerfo FW. Effect of porosity on small-diameter vascular graft healing. *Microsurgery* 2000; 20: 15-21.
 26. García-Honduvilla N, Scoccianti M, Buján J, Bellón JM. Caracterización de un nuevo tipo de prótesis de poliestireno. *Pat Vasc* 2000; 6: 203-15.
 27. Bellón JM, Buján J, Honduvilla NG, Hernando A, Navlet J. Endothelial cell seeding of polytetrafluoroethylene vascular prostheses coated with a fibroblastic matrix. *Ann Vasc Surg* 1993; 7: 549-55.
 28. Buján J, García-Honduvilla N, Hernando A, Bellón JM. Use a fibroblastic matrix improves the results of mesothelial cell seeding on vascular prostheses of polytetrafluoroethylene. *Histol Histopathol* 1995; 10: 803-10.
 29. Salacinski HJ, Punshon G, Krijgsman B, Hamilton G, Seifalian AM. A hybrid compliant vascular graft seeded with microvascular endothelial cells extracted from human omentum. *Artif Organs* 2001; 25: 974-82.
 30. Salacinski HJ, Tai NR, Punshon G, Giudiceandrea A, Hamilton G, Seifalian AM. Optimal endothelialisation of a new compliant poly (carbonate-urea) urethane vascular graft with effect of physiological shear stress. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2000; 20: 342-52.
 31. Giudiceandrea A, Seifalian AM, Krijgsman B, Hamilton G. Effect of prolonged pulsatile shear stress in vitro on endothelial cell seeded PTFE and compliant polyurethane vascular grafts. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1998; 15: 147-54.
 32. Stansby G, Berwanger C, Shukla N, Schmitz-Rixen T, Hamilton G. Endothelial seeding of compliant polyurethane vascular graft material. *Br J Surg* 1994; 81: 1286-9.

CARACTERIZACIÓN
Y BIOCAMPATIBILIDAD
DE LAS PRÓTESIS VASCULARES
DE POLIURETANO ESTABILIZADO
CON POLIDIMETILSILOXANO

Resumen. Introducción. El desarrollo de nuevos biomateriales ha desembocado en la aparición de nuevas prótesis vasculares que mejoren el comportamiento de injertos protésicos de pequeño calibre. Objetivo. El objetivo del presente trabajo es el estudio del comportamiento biológico de prótesis vasculares de poliuretano. Material y métodos. Prótesis: poliuretano-polidimetilsiloxano (PU-PDMS). Caracterización: fragmentos de PU-PDMS se procesaron para su estudio en microscopía óptica y electrónica de barrido. Se determinó la carga eléctrica de la superficie interna mediante análisis espectral. Biocompatibilidad: fragmentos (1 cm²) de PU-PDMS se implantaron en el músculo dorsal de conejos Nueva Zelanda (n= 18) durante 3 y 8 meses. Realizamos estudios morfológicos, inmunohistoquímicos (antiactina) y de reacción de cuerpo extraño (RAM11). Siembra: fragmentos de 1 cm² se sembraron con células endoteliales de vena umbilical humana. Tiempos de estudio: 24, 48, 72 horas y 7 días. Resultados. La composición es fibrilar, con presencia de numerosos poros. Existencia de cargas negativas en la superficie interna del biomaterial. A los tres meses, la prótesis se embebe en tejido neoformado muy vascularizado y rico en células blancas y células de reacción a cuerpo extraño. A los 8 meses se puede observar la total integración del biomaterial, que aparece rodeado de colágeno y muy vascularizado. A las 24 horas de la siembra observamos una superficie endotelizada, que deja al descubierto grandes poros que se tapizan en los estadios posteriores. Conclusiones. Las prótesis PU-PDMS presentan características adecuadas para utilizarse como sustitutos vasculares, gracias a su estructura, ausencia de rechazo y buena integración a corto y medio plazo. [ANGIOLOGÍA 2002; 54: 270-81]

Palabras clave. Biocompatibilidad. Células endoteliales. Ingeniería tisular. Poliuretano. Prótesis vasculares. Siembra celular.

CARACTERIZAÇÃO
E BIOCAMPATIBILIDADE
DE PRÓTESES VASCULARES
EM POLIURETANO ESTABILIZADO
COM POLIDIMETILSILOXANO

Resumo. Introdução. O desenvolvimento de novos biomateriais conduziu ao aparecimento de novas próteses vasculares que melhoram o comportamento dos enxertos protésicos de pequeno calibre. Objectivo. O objectivo do presente trabalho é o estudo do comportamento biológico de próteses vasculares de poliuretano. Material e métodos. Prótese: poliuretano-polidimetilsiloxano (PU-PDMS). Caracterização: foram processados fragmentos de PU-PDMS para o seu estudo em microscopia óptica e electrónica de varredura. Determinou-se a carga eléctrica da superfície interna por análise espectral. Biocompatibilidade: implantaram-se fragmentos (1 cm²) de PU-PDMS no músculo dorsal de coelhos da Nova Zelândia (n=18) durante 3 a 8 meses. Realizámos estudos morfológicos, imunohistoquímicos (antiactina) e de reacção de corpo estranho (RAM11). Disseminação: foram disseminados fragmentos de 1 cm² com células endoteliais da veia umbilical humana. Tempos de estudo: 24, 48, 72 horas e 7 dias. Resultados. A composição é fibrilar, com presença de numerosos poros. Existência de cargas negativas na superfície interna do biomaterial. Aos três meses, a prótese embêbe-se no tecido neoformado, muito vascularizado e rico em células brancas e células de reacção a corpo estranho. Aos 8 meses pode-se observar a total integração do biomaterial, que aparece rodeado de colagénio e muito vascularizado. Às 24 horas da disseminação observamos uma superfície endotelizada, que deixa em descoberto grandes poros que se tapam nas fases posteriores. Conclusões. As próteses PU-PDMS apresentam características adequadas para serem utilizadas como substitutos vasculares, graças à sua estrutura, ausência de rejeição e boa integração a curto e médio prazo. [ANGIOLOGÍA 2002; 54: 270-81]

Palavras chave. Biocompatibilidade. Células endoteliais. Disseminação celular. Engenharia tecidual. Poliuretano. Próteses vasculares.