



EFECTO DEL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO SOBRE CONDUCTOS VALVULADOS CARDIACOS HUMANOS CRIOPRESERVADOS.

Novella-Maestre E^{1,2}, Mirabet V³, Carda C², Solves P³, Carbonell- Uberos³ F, Larrea L³, Soler MA³, Pamplona T³, Ródenas T³, García MJ³, Alavés F³, Roig RJ³.

¹Departamento de Ginecología, Hospital Universitario Dr. Peset (Valencia).

²Departament de Patologia, Facultat de Medicina i Odontologia, Universitat de Valencia.

³Banco de Tejidos. Centro de Transfusión de Valencia.

La criopreservación en nitrógeno líquido es el método más utilizado para el almacenamiento de conductos valvulados cardíacos (CVC). Sin embargo, no se ha definido un plazo para su caducidad científicamente validado.

En el presente estudio hemos evaluado el efecto que tiene el tiempo de congelación sobre la integridad tisular y la viabilidad celular.

Una vez disecados los tejidos, se colocaron en recipientes con solución desinfectante (Vancomicina, Tobramicina, Cotrimoxazol y Fungizona) y se remitieron al banco. En estas condiciones se incubó entre 2 y 20 horas. Luego, se colocó el tejido embebido en una solución crioprotectora (M199 con albúmina humana 5% y DMSO 10%). Para la congelación se utilizó un controlador programable, siendo la tasa de enfriamiento de 1°C/min (temperatura final -120°C). El almacenamiento definitivo se efectuó en nitrógeno líquido (-196°C). La descongelación se verificó en tres fases consecutivas: 8-10 horas en nitrógeno vapor, 5 minutos a temperatura ambiente y 1 minuto a 42°C. Una vez descongelado el tejido, se procedió al lavado por dilución continua de la solución crioprotectora, utilizando solución salina fisiológica. Finalmente, se tomaron muestras del tejido vascular y de las valvas para los análisis correspondientes.

Se realizó estudio histológico de 15 válvulas aórticas (VA) y 12 pulmonares (VP) (19 de donantes multiorgánicos y 8 de pacientes receptores de trasplante cardíaco). El rango de edad de los donantes fue de 6 a 60 años. El período de almacenamiento comprendió desde 1,6 hasta 13,7 años.

El estudio estructural de fragmentos de pared vascular y valva se realizó a nivel de microscopía óptica (hematoxilina-eosina, tricrómico de Masson y Van Giesson), microscopía electrónica e inmunohistoquímica (alfa actina de musculo liso, vimentina, fibronectina y condroitin sulfato). Mediante cultivo celular "in vitro" (DMEM con suero humano 10%) se estudió la viabilidad y la capacidad proliferativa, analizando la expresión CD90 y CD31 por citometría de flujo.

En todos los cultivos realizados se obtuvo crecimiento celular. La tabla siguiente muestra porcentualmente las poblaciones celulares generadas en cultivo. Predominaron las células de estirpe estrómic (CD90) frente a la endotelial (CD31).

		Pared Vascular	Valva
%CD90 ⁺	VA	32±18,5	8,4±6
	VP	52,5±21,4	24±13,2
%CD90 ⁺⁺⁺	VA	66,5±19,8	90,3±5,9
	VP	46,9±21,6	75±14,2
%CD31 ⁺	VA	0,9±1,9	0,9±0,4
	VP	0,4±0,3	1,2±0,9
%CD31 ⁺⁺⁺	VA	0,6±1,6	0,5±0,9
	VP	0,1±0,2	0,6±1,2

La presencia de hallazgos morfológicos indicativos de lesión celular irreversible (por ejemplo, cariólisis) en el estudio ultraestructural fue escasa. Algunos signos de lesión con carácter reversible (por ejemplo, edema citoplásmico), fueron observados con mayor frecuencia.

No hubo diferencias significativas para los parámetros evaluados en función del tiempo de almacenamiento. Tampoco el tipo de donante y su edad influyeron en los resultados.

Por todo ello, parece razonable pensar que el período de 5 años de caducidad ampliamente difundido en los bancos de tejidos para las válvulas

almacenadas en nitrógeno líquido podría ampliarse, al menos, hasta el doble.