

Studio biochimico sulla integrazione biologica delle protesi arteriose artificiali

A. RIGNANO, C. BRESCIANI*,
P. MINGAZZINI, G. BIASI,
B. BERRA*, U. RUBERTI

Clinica Chirurgica II, Università degli Studi di Milano, Via Francesco Sforza, 35; 20122 Milano

**) Cattedra di Chimica Biologica, Facoltà di Farmacia
Universitaria degli Studi di Milano*

SOMMARIO

Una delle più importanti caratteristiche delle protesi arteriose artificiali è costituita dalla capacità di integrazione biologica, dalle modalità cioè con le quali il materiale alloplastico è accettato ed integrato nello stesso organismo ospite. Allo scopo di poter valutare tale grado di integrazione biologica abbiamo impostato una serie di indagini biochimiche a cui sottoporre segmenti protesici arteriosi asportati in sede di reintervento a distanza di tempo dal loro impianto, a causa di complicanze di natura ostruttiva, infettiva o pseudo-aneurismatica. Sono stati dosati l'acido glucuronico e le esosamine totali come espressione di materiale mucopolisaccaridico e proteoglicani, l'idrossiprolina come indice della presenza di materiale di natura collagenica.

SCOPO DEL LAVORO

L'introduzione delle protesi alloplastiche ha radicalmente modificato le possibilità di intervento sul sistema arterioso ed ha sostanzialmente contribuito allo sviluppo della moderna chirurgia vascolare ricostruttiva. I materiali utilizzati e la loro configurazione quali sostituti arteriosi sono andati incontro a numerosi perfezionamenti; ancora oggi essi sono

SOCIETÀ ITALIANA DI RICERCHE
IN CHIRURGIA



XIII CONGRESSO NAZIONALE
Siena, 3-5 Dicembre 1987



oggetto di ampi ed approfonditi studi per la ricerca del "sostituto vascolare ideale" (5). Tali sostituti infatti devono essere costituiti da materiale amorfo ed avere caratteristiche proprie di antitrombogenicità, di elasticità e compliance, di resistenza, di maneggevolezza ed infine possedere una porosità tale da permettere una buona integrazione biologica. Il processo di attecchimento delle protesi vascolari provoca infatti delle modificazioni reattive dei tessuti che obbediscono ad un principio organizzativo costante che mira a costruire una neostruttura fibro-vascolare sia all'intorno che all'interno del tubo protesico (Fig. 1) (3).

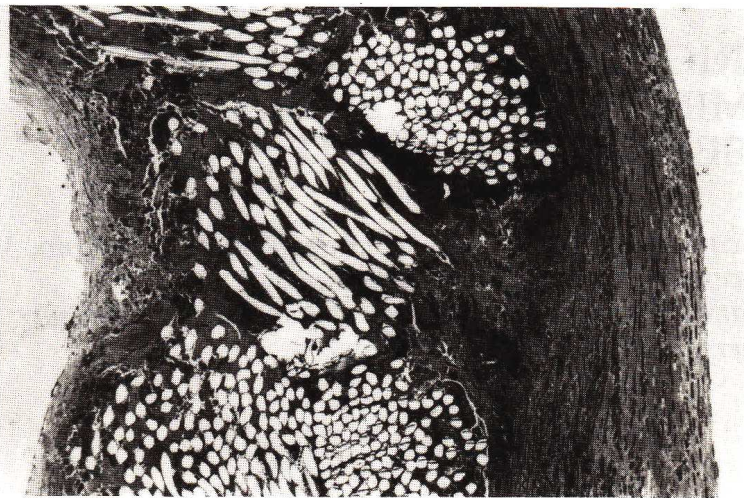


Fig.1 : Preparato incluso in araldite ed esaminato alla microscopia ottica; mostra il materiale protesico incorporato in un tessuto di granulazione ricco di cellule giganti da corpo estraneo. Si evidenzia inoltre la neoangiogenesi periprotesica ed una discreta regolarità della superficie neointimale.

In questo lavoro si è voluto studiare alcuni aspetti biochimici relativi a particolari macromolecole adese a diversi tipi di protesi, rimosse da pazienti per sopraggiunta complicanza, avendo ipotizzato una stretta relazione fra queste ed il grado di integrazione biologica delle protesi. Scopo di questo lavoro è quello quindi di evidenziare e valutare i diversi gradi di integrazione biologica in funzione dei diversi materiali usati dall'industria nel confezionamento delle protesi vascolari alloplastiche.

MATERIALI E METODO

Il materiale di studio è costituito da segmenti protesici vascolari della lunghezza di 1 cm., esaminati prima e dopo l'impianto, essendo stati asportati per sopraggiunta complicanza (trombosi, emorragia, pseudoaneurisma ed infezioni).

Le protesi espiantate e sezionate vengono sospese in soluzione fisiologica eparinata e successivamente poste in congelatore alla temperatura di -40°C a secco e così conservate.

Per ogni campione viene dosato l'acido glucuronico e le esosamine totali prese come espressione della presenza di materiale mucopolisaccaridico e/o proteoglicani, idrossiprolina come indice della presenza di materiale di natura collagenica. Il dosaggio dell'acido glucuronico viene effettuato secondo il metodo di Bitter (1): si pongono in provettoni a smeriglio, immersi nel ghiaccio, 1 ml di campione omogeneizzato con tetraborato di sodio decaidrato, si agita e si incubano a 100° per 10', successivamente si aggiunge carbazolo 0,125% in etanolo, si agita e si procede ad una seconda incubazione per altri 15' sempre alla temperatura di 100°C e si procede a lettura.

Il dosaggio dell'idrossiprolina viene eseguito secondo il metodo di Huszar (4): si pongono in analoghi provettoni immersi in ghiaccio 1 ml di campione con 2 ml di clorammina T sciolta in n-propanolo in soluzione tampone, si agita, si lascia a temperatura ambiente per 10', si aggiungono 2 ml di para-diaminometilbenzaldeide in propanolo, si incuba a 65°C per 15' e si procede a lettura.

Il dosaggio delle esosamine viene eseguito secondo il metodo di Gardel (2): in provettoni smerigliati, immersi in ghiaccio, si pongono 1 ml di campione con 1 ml di acetil-acetone in bicarbonato di sodio, si tappa, si agita, si incuba a bagno termostato a 96°C per un'ora, si raffredda, si aggiungono 5 ml di ossido di etanolo al 95% ed 1 ml di para-dimetilamino-benzaldeide addizionato ad etanolo al 95% ed acido cloridrico al 72% e si procede a lettura.

RISULTATI PRELIMINARI

Fino ad ora si sono analizzate secondo le metodiche descritte una protesi biologica in vena safena e una protesi in PTFE (politetrafluoroetilene) ottenendo i seguenti risultati: Protesi biologica: 0,725 μg di acido glucuronico, 10,94 μg di idrossiprolina e 0,63 μg di esosamina; Protesi in PTFE: 0,349 μg di acido glucuronico, 1,55 μg di idrossiprolina e 0,718 μg di esosamine (i risultati si riferiscono a μg di sostanza per mg di protesi) (Tab.1)

TABELLA RIASSUNTIVA

| | <u>AC. GLUCURONICO</u> (Mucopolissacaridi) | <u>OH-PROLINA</u> (Collagene) | <u>ESOSAMINE</u> |
|-------------------|---|----------------------------------|------------------|
| Protesi biologica | 0,725 | 10,94 (8,2) | 0,63 |
| Protesi PTFE | 0,349 | 1,55 | 0,718 |





CONCLUSIONI

Come risulta dalla Tab. 1, esistono significative differenze per quanto riguarda la presenza di materiale mucopolisaccaridico acido ed il contenuto di collagene tra la protesi artificiale e quella biologica; emerge interessante il fatto che il contenuto di esosamine invece sia uguale nella protesi biologica ed in quella artificiale; questo lascia presumere che le differenze prima indicate possano essere significative di un diverso accumulo di materiale sulla protesi biologica. I dati biochimici ricavati quindi sembrano confermare, una volta di più, in accordo con i dati clinici e morfologici (6) al microscopio a scansione, la minore trombogenicità nei confronti delle protesi sintetiche.

Riteniamo pertanto che i risultati ottenuti, sebbene riguardino uno studio preliminare, e siano quindi necessariamente limitati, possano senz'altro confermare la validità del lavoro intrapreso.

Ci proponiamo di proseguire nelle nostre indagini secondo le procedure esposte al fine di poter trovare una possibile relazione che si ripeta con una percentuale significativa tra i vari tipi di protesi esaminate e i rispettivi risultati ai dosaggi biochimici onde poter stabilire quale sia il miglior sostituto vascolare da adottare.

Un ulteriore sviluppo nella utilizzazione di questa metodica è la valutazione dei dati in funzione del tipo di complicanza sopraggiunta, che ha causato la rimozione dell'innesto. Nostro obiettivo sarà poi quello di valutare da un punto di vista qualitativo e quantitativo i differenti tipi di mucopolisaccaridi e proteoglicani adesi; valutare i tipi e i gradi di polimerizzazione del collagene e correlare infine eventuali modificazioni con le attività enzimatiche connesse al metabolismo dei mucopolisaccaridi, dei proteoglicani e del collagene stesso.

BIBLIOGRAFIA

- 1) R.BITTER, H.Muir. Ann.Biochem. 4: 330, 1962
- 2) GARDELL. Acta Chem.Scand. 1: 201, 1953
- 3) H.GAYLIS: Pathogenesis of anastomotic aneurysms. Surgery 90: 509, 1981
- 4) G.HUSZAR, J.Maiocco, F.Naftalin. Ann.Biochem. 105: 428, 1980
- 5) J.T.SCALES: Tissue reaction to synthetic materials. Proc.R. Soc.Med. 46: 647, 1953
- 6) V.SFORZA, P.Mingazzini, G.C.Politi, P.Tanganelli, G.M.Biasi, U.Ruberti, G.Weber: Morphological study of luminal surface of dacron and umbilical vein arterial grafts by means of SEM. Inter.Angio. 1: 159, 1982