

Prevention of Bioprosthetic Heart Valve Calcification by Ethanol Preincubation Efficacy and Mechanisms

Narendra Vyavahare, PhD; Danielle Hirsch, PhD; Eyal Lerner, PhD; Jonathan Z. Baskin; Frederick J. Schoen, MD, PhD; Richard Bianco; Howard S. Kruth, MD; Robert Zand, PhD; Robert J. Levy, MD

Prevención de la Calcificación en Válvulas Biológicas por la Pre-incubación en Etanol. Eficacia y Mecanismos

Antecedentes, La calcificación de las valvas en las prótesis valvulares biológicas fabricadas bien con válvulas Aortica porcinas, o pericardio de bovino, es la causa más frecuente del fallo de las bioprótesis. Nuestras investigaciones fueron dirigidas a estudiar el Etanol como tratamiento posterior a la fijación de las valvas con Glutaraldehido en las válvulas Aortica porcinas como una nueva forma de prevenir la calcificación de las mismas. La hipótesis que rige esta aproximación se basa en que el tratamiento con Etanol inhibe la calcificación como resultado de las alteraciones estructurales proteínicas y la extracción de lípidos que provoca.(*)

Método y resultados, Los resultados, demostraron una completa inhibición de la calcificación en las valvas de las prótesis porcinas, fijadas con Glutaraldehido y tratadas con una concentración al 80% de Etanol, en implantes subdérmico en rata (60 días de tratamiento con Etanol demostraron unos niveles de calcio de 1.87 ± 0.29 $\mu\text{g}/\text{mg}$ en los tejidos, comparado con los índices del control que fueron de 236.00 ± 6.10 $\mu\text{g}/\text{mg}$) y en reemplazos mitrales en oveja (con pretratamiento a base de Etanol, 5.22 ± 2.94 $\mu\text{g}/\text{mg}$ frente a los 32.50 ± 11.50 $\mu\text{g}/\text{mg}$ del control). El mecanismo de la inhibición por el Etanol puede ser debido a varias consideraciones: el tratamiento con Etanol, demostró una alteración irreversible en la banda de la amida I, que fue vista con un espectro de infrarrojo, para ambos tipos de colágeno y enlaces cruzados de Glutaraldehido purificados, en las valvas de la prótesis porcina, por otro lado, el tratamiento con Etanol, produjo una casi completa extracción del colesterol y los fosfolípidos de las valvas.

Conclusiones, El tratamiento con Etanol, posterior a la fijación con Glutaraldehido, en prótesis valvulares porcinas, presenta una alta eficacia, con un mecanismo de acción bien fundamentado, y puede prevenir el fallo por calcificación en la prótesis biológicas.

(*) El tratamiento con Etanol tras la fijación de las valvas con Glutaraldehido, hace que de los radicales libres que hubieran aparecido entre las fibras de colágeno, no quede ninguno, siendo estos los responsables de desestabilización celular y productores de Citotoxicidad, coincidiendo estas zonas con áreas de calcificación es decir, altera la estructura de triple hélice del colágeno, aumentando su resistencia a la calcificación. Además, el Etanol extrae el 99% del colesterol celular y el 94% de los fosfolípidos.

**Prevention of calcification of glutaraldehyde-crosslinked porcine aortic cups by Ethanol preincubation:
Mechanistic studies of protein structure and water-biomaterial relationships**

Narendra Vyavahare, PhD; Danielle Hirsch, PhD; Eyal Lerner, PhD; Jonathan Z. Baskin; Frederick J. Schoen, MD, PhD; Robert Zand, PhD; Robert J. Levy, MD

**Prevención de la calcificación por fijación de Glutaraldehído en valvas Aortica de porcino por la pre-incubación en Etanol:
Estudios mecánicos de la estructura proteínica y las relaciones agua-material biológico**

Abstract: El uso clínico de las válvulas biológicas fabricadas a partir de válvulas Aortica porcinas fijadas con Glutaraldehído es limitado debido al fallo existente por la calcificación de las mismas. Anteriormente, hemos visto la elevada eficacia del tratamiento con Etanol para la prevención de la calcificación de las valvas. La finalidad del presente estudio, es extender nuestro conocimiento sobre los cambios materiales originados por el tratamiento con Etanol, y la relación entre estos efectos con el mecanismo anticalcificante del tratamiento con Etanol. En los velos valvulares de válvulas Aortica porcinas fijadas con Glutaraldehído (control y tratadas con Etanol) se estudiaron los efectos del Etanol sobre el contenido de agua tisular y los tiempos de relajación (T1), utilizando un NMR de protones en estado sólido. Asimismo, en las muestras de las valvas se estudiaron los cambios estructurales de las proteínas debidos al Etanol mediante una espectroscopia ATR-FTIR. Se estudiaron también los cambios en las interacciones colesterol-tejido valvar que se producirían. La estabilidad valvar, fue expresada en términos de contenido de residuos de Glutaraldehído y degradación de la colagenasa. El contenido de agua de las valvas disminuyó significativamente debido al tratamiento con Etanol. Los cambios estructurales del colágeno valvar originados por el tratamiento con Etanol persistieron 7 días después de su implantación subdérmica en ratas. In vitro, la captación intracelular del colesterol de la valva disminuyó también por el tratamiento con Etanol, incrementándose la resistencia a la digestión del colágeno por la colagenasa. El contenido de Glutaraldehído de las valvas, no sufrió cambios con el tratamiento con Etanol. Concluyéndose, que el tratamiento con Etanol de las valvas de las válvulas biológicas causa efectos multicomponente en el tejido y en su estructura macromolecular, las cuales, pueden explicar parcialmente el mecanismo anticalcificante del tratamiento con Etanol.

Evaluation of a Novel Bioprosthetic Heart Valve Incorporating Anticalcification and Antimicrobial Technology in a Sheep Model

Dan Langanki, Matthew F. Ogle, J. Douglas Cameron, Ross A Lirtzman, Richard F. Schroeder, M. William Mirsch

Evaluación de una Nueva Prótesis Biológica con Tratamiento Anticalcificación y Tecnología Antimicrobiótica en Ovejas

Antecedentes: La válvula St. Jude Medical (SJM) Epic™ ha sido diseñada para disminuir el riesgo de endocarditis post-valvular gracias a la impregnación en plata del poliéster del anillo y a la inhibición de la calcificación distrófica por el uso del tratamiento con Etanol.

Métodos: Se implantaron válvulas en ovejas jóvenes de 20 semanas de vida para determinar la seguridad y eficacia del dispositivo, así como la liberación de plata del anillo y el grado de calcificación distrófica. La válvula St. Jude Medical (SJM) Epic™ fue comparada con la válvula SJM Biocor porcina (sin tratamiento con Etanol, sin impregnación en plata) y con la válvula de Baxter Carpentier-Edwards standard.

Resultados: Las concentraciones de plata registradas en sangre, fueron de 40 ppb. A los 10 días de su implantación, muy por debajo de los niveles tóxicos (300 ppb.), volviendo dichos niveles a su nivel basal pasados 30 días. La máxima acumulación de plata, se encontró en el hígado (16.75 mg/g peso seco); Las concentraciones encontradas en cerebro, bazo, riñón, y pulmón fueron similares a las registradas con los implantes de válvulas sin impregnación de plata. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la cantidad de calcio encontrado entre SJM Epic y SJM Biocor. La respuesta fibrosa hacia el anillo de sutura, fue similar en los tres tipos de válvulas.

Conclusiones: En todos los momentos testados, la liberación de plata desde la válvula SJM Epic dejó los niveles en sangre muy por debajo de los índices de toxicidad. Aunque la calcificación en los dos grupos de válvulas SJM fue extremadamente baja, las ovejas de 20 semanas podrían ser insuficientemente sensibles a detectar la diferencia en la acumulación de calcio en las modernas válvulas protésicas biológicas.