

Rev. Esp. de Cir. Ost., 18, 351-384 (1983)

CÁTEDRA DE TRAUMATOLOGÍA Y ORTOPEDIA. UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

Profesor SERAL IÑIGO

Estudio de la reendotelización de la íntima en microsuturas arteriales experimentales

Parte II

Metódica experimental, hallazgos, resultados, discusión y conclusiones.
Bibliografía

D. PALANCA MARTÍN

(conclusión)

RESUMEN

Este trabajo experimental ha sido realizado sobre la aorta abdominal de ratas blancas tipo Wistar, su luz arterial no sobrepasó 1 mm de diámetro.

Se realizaron cinco series de 10 ratas cada una, sacrificando el animal a las 6 horas, 24 horas, 7 días, 14 días y 28 días respectivamente de realizada la anastomosis, la pieza de la anastomosis fue estudiada histológicamente por microscopía óptica, microscopía electrónica de transmisión y microscopía electrónica de barrido.

El autor describe los detalles técnicos de la microanastomosis y de la preparación de la pieza y la técnica histológica correspondiente.

Se demuestra que son causas de necrosis de la capa media arterial: el excesivo número de puntos de sutura y su anudamiento a gran tensión.

La hiperplasia subintimal no aparece hasta los 7 días de la sección quirúrgica, representa la respuesta de la capa media en un intento de reparación.

La reparación de la lámina elástica interna se realiza a las 4 semanas de la intervención.

Las nuevas células endoteliales aparecen a las dos semanas.

En las primeras 24 horas tan sólo se encuentra gran cantidad de material fibrinoide, de plaquetas y células leucocitarias.

Los hallazgos histológicos sobre la superficie endotelial de la anastomosis muestran que el proceso de reendotelización de la íntima comienza a los 7 días, para quedar completado a las 2 semanas de la sección arterial.

Las nuevas células endoteliales se forman a partir de las células endoteliales indemnes de la vecindad.

Descriptores: Microanastomosis arterial; Regeneración endotelial. Regeneración endotelial en la microanastomosis. Células endoteliales. Su aparición en las microsuturas arteriales.

SUMMARY

The abdominal aortae of the rat («Wister») whose intraluminal diameter was always under 1 mm, has been used for this experimental work, in five series of ten rats each, the animals being sacrificed at 6 hrs., 24 hrs., 7 days, 14 days and 28 days, respectively, after surgical anastomoses. The anastomoses specimen was histologically studied under optical, electron and Scanning microscopy.

The surgical technique details of the artery microanastomoses are described, as well as the specimen processing and the histological technique.

The causes for the necrosis of the middle layer of the artery were: too many and excessively tight stitches.

The subintimal hyperplasia does not appear until 7 days after arterial section for the healing of the middle layer; the repairing of the elastic laminae is completed four weeks after operation. The new endothelial cells appear two weeks before. In the first 24 hours there are obly fibrinoids, platelets and leucocytes.

The histological findings show that the reendothelialization of the intima layer begins on the seventh day and is completed along the following week; the origin of the new endothelial cells is the neighbour undamaged endothelial cells.

Key words: Arterial microanastomoses. Endothelial growth. Endothelial growth in microanastomoses. Endothelial cells in microanastomoses.

1. Material

Para el desarrollo de este trabajo el animal empleado ha sido la rata blanca del tipo «Wistar», seleccionándose por la edad y el peso, para que el calibre de la aorta de la rata, no sobrepasase 1 mm de diámetro.

Por regla general, las ratas eran de unos tres meses de vida y con un peso que oscilaba entre los 150 y los 250 grs, no importándonos el sexo del animal.

Los animales fueron sacrificados en períodos de tiempos distintos, en dependencia con la serie que estuviéramos realizando en aquel momento y las piezas quirúrgicas extraídas (fragmento de aorta con la línea de sutura centrada en su mitad), fueron analizadas mediante:

- Hematoxilina-Eosina
- Microscopía óptica
- Elastina-Van-Gieson
- Microscopía electrónica de transmisión
- Microscopía electrónica de barrido

Grupos realizados

Se han realizado 5 series, con períodos de sacrificio en distintas épocas, así:

1.ª serie: El sacrificio se realizó a las 6 horas de la intervención, utilizándose un total de 10 ratas.

2.ª serie: El sacrificio se efectuó a las 24 horas de la intervención, utilizándose también en esta serie un total de 10 ratas.

3.ª serie: El sacrificio fue a los 7 días, realizando un total de 10 ratas.

4.ª serie: El sacrificio se realizó a los 14 días de la primera intervención, haciéndose como en las series anteriores un total de 10 ratas.

5.ª serie: Con sacrificio más tardío, a los 28 días, con un total de 10 ratas.

Cada grupo constaba de 10 animales, a los que se destinaban los 4 primeros de cada serie para el estudio con Microscopía electrónica de barrido, a los 4 siguientes de cada grupo, se destinaban para el estudio con Microscopía electrónica de transmisión y los 2 restantes de cada grupo, que completaba el total de los 10 animales de cada serie, para el estudio con Microscopía óptica.

Durante la segunda intervención, se revisaba la línea de sutura, para tratar de poner de manifiesto alguna anomalía como consecuencia del trauma quirúrgico previo, como pudiera ser la presencia de una trombosis,

para lo que se realizaba en caso de sospecha, tanto después de la primera intervención como de la segunda los test de vaciado y relleno como recomienda ACLAND (1). (Fig. 22). Una vez realizado esto, se extraía la pieza quirúrgicamente abriéndola longitudinalmente y se sacrificaba al animal.

Posteriormente, y dados los hallazgos encontrados en la bibliografía, acerca de las consecuencias que se producen sobre las distintas capas de la pared arterial como consecuencia de la utilización de los microclamp, se incluyó una 6.ª serie en la que se aplicaba el mismo microclamp utilizado para las series anteriores durante períodos de tiempo distintos. Para ello se destinaron 10 ratas. En 5 de ellas, el microclamp se mantuvo cerrado sobre la pared arterial durante 30 minutos, y en las otras 5 restantes, durante 60 minutos. El sacrificio se efectuó en ambos casos a la semana de la colocación del microclamp, como recomiendan BAXTER y cols. (11). Las piezas extraídas, una vez sacrificado el animal, igualmente se destinaron para su estudio con:

- Microscopía óptica (Hematoxilina-Eosina; Elastina-Van-Gieson).
- Microscopía electrónica de transmisión.
- Microscopía electrónica de barrido.

En todos los animales empleados para el desarrollo de este trabajo se empleó la misma técnica quirúrgica diferenciando exclusivamente, el tiempo de sacrificio del animal, con el fin de no desvirtuar los resultados.

Solo en la 6.ª serie, el acto quirúrgico fue sensiblemente diferente a los restantes, puesto que en esta serie, no fue preciso realizar técnicas de microanastomosis vascular, ya que sólo interesaba estudiar el efecto producido sobre la íntima arterial como consecuencia de la presión mantenida por los brazos del microclamp durante un período de tiempo determinado.

Para la ejecución de las distintas series, dispusimos de un microscopio quirúrgico binocular Poland OpMi 1 con 160 mm de tubo ocular y máquina fotográfica incorporada, así como dispositivo de flash. Este microscopio permite varias posibilidades de aumentos: 4x, 6x, 10x, 16x, 25x; no obstante, estos números no corresponden a los aumentos reales, sino que son números de referencia. El cálculo de los aumentos reales en relación con estos números, sería el siguiente.

Nosotros hemos utilizado de forma habitual, tanto en la microsutura vascular como en la disección de los tejidos los aumentos 10x y 16x, habiendo sólo empleado los máximos aumentos para la revisión de la línea de sutura.

El material microquirúrgico empleado, consistía:

- Microtijeras curvas.
- Microtijeras rectas.

Aumentos reales

Objetivo	Aumentos					Ocular
	mm.	6	10	16	25	
200	3	5	8	13	20	10 ×
300	2	3	5	8	13	
400	1'5	2'5	4	6	10	
200	4	6	10	16	25	12'5 ×
300	2'5	4	6	10	16	
400	2	3	5	8	13	
200	5	8	13	20	32	16 ×
300	3	5	8	13	20	
400	2'5	4	6	10	16	
200	6	10	16	25	40	20 ×
300	4	6	10	16	25	20 ×
400	3	5	8	14	20	

- Pinzas en ángulo de 90° (Dumont n.º 5).
- Pinzas rectas (Dumont n.º 3).
- Pinzas rectas (Aesculap n.º 5).
- Pinzas en bayoneta (Dumont n.º 5A).
- Pinzas curvas (Dumont n.º 7A).
- Porta de Barraquer.
- Doble clamp aproximador de Biemer (Aesculap).
- Clamps simples.
- Goma de globo de color amarillo y azul.
- Escala milimétrica.
- Instrumental normal para disección partes blandas.
- Jeringuilla desechable y agujas finas.
- Pera para lavado.

El coagulador bipolar, dada que la adquisición del mismo fue posterior al inicio de las series y con el fin de no desvirtuar los resultados, no lo hemos utilizado, haciendo en su lugar ligadura de los vasos arteriales que emergían de la aorta y que nos coincidía en el campo quirúrgico. La ligadura, la efectuábamos con nylon monofilamento de 10/0 de la casa Ethicon con aguja redonda y ligeramente circular con un tamaño BV-3 de 130 micras y 22 micras del hilo.

Fue preciso averiguar la presión que desarrollan los microclamps utilizados para el desarrollo de esta Tesis Doctoral, para poder valorar la lesión que pudieran ocasionar sobre la capa íntima de la arteria, teniendo presente que una presión superior a los 30 gm por mm² es perjudicial. THURSTON y cols. (241).

Las características técnicas del microclamp Biemer, utilizado en todas las series, habiéndosele medido la presión en la mitad del brazo o boca del clamp, con un diámetro determinado del vaso presionado es la siguiente:

- Para 0'5 mm de diámetro arterial, la presión varía de 22 gr por mm² a 29 gr por mm².
- Para 1'0 mm de diámetro arterial, la presión desarrollada varía de 11 gr a 14 gr por mm².
- Para 1'5 mm de diámetro arterial, la presión varía de 7 gr a 9'5 gr por mm².

2. Métodos

Todos los animales fueron intervenidos siguiendo la misma técnica operatoria, mediante la reparación microquirúrgica de la aorta abdominal de la rata «Wister», previa arteriotomía y posterior microsutura con puntos sueltos de material no reabsorbible.

Los animales utilizados para el desarro-

llo de las distintas series, tenían un peso que oscilaba entre los 150 grs y los 250 grs, con un calibre de aorta abdominal de un milímetro oscilando en ocasiones en ± 2 décimas de milímetro.

Técnica quirúrgica

1. Anestesia

Elegimos la anestesia con éter-etílico 65° dada su facilidad de empleo y su escaso riesgo para el animal, siempre que la dosis fuera la correcta.

La vía de administración fue siempre mediante inhalación de los vapores que emite el éter.

2. Instrumental

El instrumental de abordaje quirúrgico y cierre macroscópico, era el habitual en Cirugía Plástica o Traumatología, reservando exclusivamente el material microquirúrgico para la disección de la aorta abdominal, así como para la arteriotomía y sutura posterior.

3. Técnica

Una vez anestesiado el animal, se le coloca sobre la mesa quirúrgica en posición de decúbito supino, sujetándole mediante lazadas las cuatro extremidades, asimismo y mediante hilo de seda gruesa, se tracciona de sus incisivos superiores a los extremos de la mesa, con el fin de evitar que pueda realizar un movimiento intempestivo durante el acto quirúrgico.

Se depila la zona ventral, aseptizándola luego con una solución de hibitane.

La intervención quirúrgica comienza haciendo una laparotomía media, xifo-púbica. Una vez practicada la incisión en la piel, con unas pinzas se tracciona y se levanta la pared muscular, con bisturí de hoja estrecha se practica una pequeña incisión por donde se introducen las tijeras de Metzbaum y se secciona la pared muscular por la línea media. Las tijeras deben de avanzar en posición horizontal y ligeramente elevadas, procurando no lesionar ningún asa intestinal, ni la vejiga. Terminada la incisión, se coloca a ambos lados un separador automático.

A continuación, se extrae el paquete intestinal, rechazándolo hacia el lado superior y derecho del animal, envuelto con una gasa empapada de suero fisiológico. El motivo por el que se rechaza el paquete intestinal hacia el lado derecho

del animal, es para no traccionar del pedículo hepático.

Durante toda la intervención, procuramos ir humedeciendo con suero fisiológico el paquete intestinal.

Una vez rechazado el paquete intestinal, aparece en el fondo de la cavidad abdominal el colon descendente, que se libera y se rechaza también hacia el lado derecho, procurando no lesionar los vasos mesentéricos.

Seguidamente, aparece el peritoneo posterior, que asimismo es disecado, apareciendo en ese momento la aorta abdominal y la vena cava, ambas envueltas en la misma adventicia. En ese momento es cuando se debe de cambiar el instrumental habitual de apertura y cierre, por el instrumental microquirúrgico, utilizando ya el microscopio para el resto de la intervención.

La disección para aislar la aorta de la vena cava, es muy laboriosa y lenta, debiendo de realizarse con un cuidado extremo, manejando siempre la adventicia que cubre a la arteria y nunca la que cubre a la vena, pues el desgarrar de la vena cava, podría producirse en cualquier momento.

La disección y aislamiento de arteria y vena, la ejecutamos con pinzas rectas Dumont n.º 3 y microtijeras curvas.

Los vasos colaterales arteriales que aparecían, los ligábamos con nylon monofilamento de 9/10 y la longitud de aorta abdominal que se disecaba era de aproximadamente un centímetro, espacio suficiente para poder introducir el microclamp aproximador con sus brazos separados. La disección de la aorta abdominal se efectuaba, en todos los casos, por debajo de las arterias renales.

Una vez aislada la aorta de la cava y liberada de las colaterales arteriales, se pasa inmediatamente por debajo de la arteria y por encima de la vena, una tira de goma de globo del color azul o amarillo, de forma que quedara totalmente aislada la arteria de las restantes estructuras vecinas y además quedase protegida la vena cava ante cualquier manipulación extraña, que pudiera desgarrarla.

En este instante se introducía, asimismo,

por debajo de la arteria y por encima de la goma, una escala milimétrica, que nos permitía conocer el calibre arterial.

Desde el momento en que la arteria quedaba aislada sobre la goma y expuesta a la luz del microscopio, tratábamos de evitar el espasmo arterial, procurando no realizar maniobras bruscas, e irrigar el campo microquirúrgico con unas gotas de suero fisiológico, a temperatura adecuada, con el fin de evitar la desecación de la arteria, que conllevaría al espasmo arterial. Asimismo, tratábamos de realizar una hemostasia perfecta, para que las paredes del vaso no estuvieran en contacto con la sangre, siendo éste también un factor que provoca el espasmo arterial.

Seguidamente, se introduce el microclamp, con una rama fija en la parte proximal y la móvil sobre la distal de la arteria. La colocación del clamp, debe de hacerse pinzando el vaso correctamente sin que se produzca una rotación del mismo. A continuación, se practica la arteriotomía con unas tijeras rectas.

Dada la elasticidad de las paredes arteriales, éstas se retraen discretamente. Hacemos un lavado a distancia de la luz arterial y sólo cuando persiste algún coágulo en su interior, hacemos la maniobra recomendada por WEBSTER del «Milking» o maniobra de ordeño. El lavado, lo hacemos con suero fisiológico a temperatura adecuada y sin introducir la cánula en el interior de la luz arterial.

Una vez que la luz arterial está limpia de coágulos o sangre, realizamos la adventiciectomía, extirpando la adventicia que se introduce dentro de la luz arterial. Generalmente, pelábamos un milímetro de adventicia de cada extremo arterial, mediante la maniobra de la circuncisión.

Realizada la adventiciectomía, aproximamos ambos brazos del clamp, hasta que los extremos arteriales quedan perfectamente afrontados y dispuestos para comenzar a realizar la sutura.

Para hacer la microsutura arterial, hemos utilizado en todos los casos el nylon monofilamento de 10/0 de la casa Ethicon con un tamaño de las agujas BV-2 de 125 milimicras, siendo el tamaño del hilo de 22 milimicras. Asimismo, e indistintamente, utilizamos la aguja BV-3 de 130 m y 22 m de tamaño del hilo.

La técnica seguida en todos los casos, ha sido la «biangulación excéntrica de 120°» siguiendo la técnica de COBBETT (40).

El primer punto se da lo más lateral posible, sobre la cara anterior, dándose el segundo punto a 120° del anterior. En ese momento, mantenemos a tensión uno de los cabos de cada uno de estos dos puntos con el fin de que se nos despegue la cara posterior y no incurrir en el error de suturar la cara anterior y la posterior en el mismo punto.

Una vez dados estos dos puntos tractores y en dependencia del calibre de la arteria, colocamos uno o dos puntos más sobre esta cara anterior, hasta conseguir ver un cierre perfecto (Fig. 22).

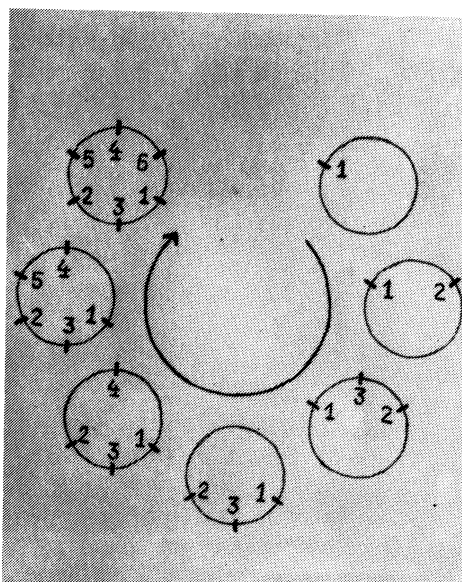


FIG. 22.- Esquema de la colocación de los puntos de sutura.

Es muy importante no equivocarse a la hora de introducir la aguja sobre las paredes arteriales, ya que supondría un mayor número de pinchazos sobre la íntima, que en definitiva son lesiones que le provocamos. Asimismo, la tensión que aplicamos a cada nudo procuramos que no sea excesiva y si suficiente para cerrar la arteria sin que se nos produzcan fugas sanguíneas posteriores.

Una vez finalizada la sutura de la cara anterior, giramos el clamp 180° (fig. 9), teniendo la precaución de pasar también los hilos tractores, entonces se da un punto central sobre la cara posterior y haciendo tracción sobre los dos hilos tractores y sobre este central de la cara posterior, se completa la sutura dando uno a cada lado del punto tractor central de la cara posterior, comprobando el estado de la sutura e incluso aumentando los aumentos del microscopio para realizar esta maniobra.

Seguidamente se desclampa la rama distal del clamp, produciéndose una discreta hemorragia a nivel de la sutura. Con una grasa empapada en suero, mantenemos una presión manual durante un periodo de tiempo, que generalmente oscila sobre los cinco minutos, comprobando si la hemorragia ha cedido, en caso contrario y bajo microscopio, se revisa la línea de sutura, buscando el punto por donde se produce la fuga y se procede a insertar, en dicho lugar, una nueva sutura que haga ceder la hemorragia.

Una vez vista la buena estanqueidad de la sutura, se retira la rama proximal del clamp, viéndose el buen flujo así como el latido de la arteria a ambos lados de la sutura, realizándose en caso necesario los test del vaciado y relleno como recomienda ACLAND (1).

Al cabo de unos minutos y una vez comprobado que no se produce ninguna fuga hemática a través de la línea de sutura se comienza a cerrar la herida quirúrgica. En ese instante, retiramos todo el material microquirúrgico, así como el microscopio, uti-

lizándose a partir de ese momento el mismo material quirúrgico empleado para abrir. La piel la cerramos con catgut de 5/0, al igual que el peritoneo.

El animal, pasa después del acto quirúrgico a una jaula independiente, donde se le tiene hasta el momento de su reintervención, para extracción de la pieza quirúrgica, diferiendo el tiempo de sacrificio, según a la serie que pertenezca.

4. Reintervención

Una vez que el animal ha cumplido el tiempo preciso para su sacrificio, se le extrae de la jaula y se anestesia nuevamente con éter, colocándolo seguidamente en decúbito dorsal, sobre la mesa operatoria, realizándose los mismos tiempos que para la intervención inicial.

La cavidad abdominal se abre quirúrgicamente y se localiza bajo el microscopio quirúrgico la zona de la microsutura, anotándose todas las alteraciones que pudieran existir a nivel de la sutura, como pudieran ser las adherencias, las dilataciones aneurismáticas, el cambio de coloración, las trombosis, etc.

Para la detección de trombosis a nivel de la sutura realizamos, si fuera preciso, los test de vaciado y relleno como preconiza ACLAND (1).

Seguidamente, y mediante microclamps simples, clampamos la arteria por encima y por debajo de la línea de sutura a una distancia de unos 0'5 cm aproximadamente de la zona de puntos. Inmediatamente después y mediante microtijeras rectas, cortamos por debajo del microclamp proximal y vamos disecando la arteria de la vena de todas las adherencias que se han producido después de la intervención inicial, hasta llegar al clamp distal, seccionando la arteria inmediatamente por encima del mismo.

En ese instante, aumentamos la dosis de éter, con el fin de provocar una parada respiratoria y producir la muerte del animal.

Sujetando siempre la pieza quirúrgica, con unas micropinzas, de la adventicia de la arteria con el fin de no lesionar la íntima, procedemos a abrir longitudinalmente la pieza mediante microtijeras rectas. En ese instante, la luz arterial queda expuesta, pudiéndose valorar el estado de la zona de puntos, así como la existencia o no tanto de trombos rojos como blancos.

La pieza la colocamos sobre una pletina milimetrada con el fin de fotografiarla.

Asimismo, se humedece de forma continua, con suero fisiológico mediante goteo a distancia.

La pieza la fijamos a una superficie de corcho mediante unos puntos de nylon monofilamento de 9/10 en sus cuatro esquinas, y seguidamente, incluimos la pieza en una mezcla de glutaraldehído al 25 por 100 comercial más Millonig solución tamponada, siempre que la pieza estaba destinada para su estudio con Microscopía electrónica tanto si era de transmisión, como si era de barrido. Si la pieza se destinaba para su estudio mediante Microscopía óptica, una vez que se extraía de su lugar de implante, se abría longitudinalmente para estudiar la luz arterial igual que para las inclusiones en glutaraldehído, pero en estos casos se introducía en un frasquito con formol al 10 por 100 hasta su estudio.

La técnica de fijación con glutaraldehído era la siguiente:

En primer lugar, se prepara la solución tamponada de Millonig mediante:

- A. Fosfato monosódico al 2'26 por 100.
- B. Hidroxido sódico al 2'52 por 100.
- C. Glucosa al 5'4 por 100.

Para ello, se mezcla 41'5 ml de la solución A con 8 ml de la solución B. Esta mezcla, deberá tener un pH de 7'3.

Se quitan 5 ml de esta mezcla y se añaden 5 ml de la solución C. Por último, se agrega 1 ml de cloruro cálcico al 1 por 100 por cada 100 ml de la mezcla de las tres soluciones.

Esta solución se conserva en nevera durante unos 6 días.

En el momento de extraer la pieza quirúrgica

que va destinada al estudio con Microscopía electrónica, se mezcla:

- 1 ml de glutaraldehído comercial al 25 por 100.
- 4 ml de la solución tampón de Millonig.

Las piezas, deben permanecer en esta mezcla durante un período de tiempo de 4 a 5 horas en nevera y a una temperatura de 4° C. Transcurrido el tiempo, se efectúan tres lavados cada 20 minutos con solución tampón de Millonig cada vez. Una vez realizado esto, las piezas las mantuvimos en nevera durante un máximo de 5 días, momento en el que se iniciaba la fijación con ácido ósmico.

Fijación con ácido ósmico

Soluciones:

- A. Acetato sódico 1'904 por 100.
- B. Veronal sódico 2'58 por 100.
- C. Acido clorhídrico 0'1 N.

El tampón se obtiene mezclando:

- 10 ml de la solución A.
- 10 ml de la solución B.
- 10 ml de la solución C.
- 20 ml de agua destilada.

- Tetroxido de osmio al 2 por 100.

Método:

Las piezas, recién extraídas, permanecen durante 2 horas a 4° C en el fijador de Palade, consistente en:

- 1 parte de ácido ósmico al 2 por 100.
- 1 parte de solución tampón.

Esta mezcla deberá tener un pH de 7'2 y debe ser preparada en el momento de utilizarse. Transcurrido el tiempo de fijación, lavar las piezas durante 20 minutos en la solución tampón. Inmediatamente, continuamos con la deshidratación.

Inclusión en araldita

Deshidratación con acetonas:

Acetona 30°	15 minutos
Acetona 50°	30 minutos
Acetona 70°	30 minutos
Contraste	2 a 12 h.
Acetona al 90 por 100	30 minutos
Acetona 100°	30 minutos
Sulfato de cobre a saturación	30 minutos
Sulfato de cobre a saturación	30 minutos
Oxido de propileno	60 minutos
Oxido de propileno	60 minutos

- Contraste: Acetato de uranilo al 2 por 100 en acetona a 70°.

Inclusión:

Oxido propileno y araldita I (3:1) ...	2 horas
Oxido propileno y araldita % (1:1) ..	2 horas
Oxido propileno y araldita I (1:2) : .	12 horas
Araldita I (50° C)	2 horas
Araldita I (50° C)	12 horas
Araldita II (50° C)	1 hora
Araldita II (50° C)	30 minut.

Preparación de las aralditas

Aralditas I:

Endurecedor (B/azul)	10 ml.
Plastificante (D/verde)	0'15 ml.
Resina (A/M rojo)	10 ml.

Aralditas II:

Endurecedor (B/azul)	10 ml.
Acelerador (C/amarillo)	0'4 ml.
Plastificante (D/verde)	10 ml.
Resina (A/M rojo)	10 ml.

Las aralditas se preparan 30 minutos antes de utilizarse, manteniéndolas a 50° C. No conviene que permanezcan más tiempo del señalado, ya que la presencia del acelerador, en su composición, puede polimerizarlo hasta el extremo de que su viscosidad sea excesiva.

Colocar las piezas en el fondo de las cápsulas arrastrando una gota de araldita y rellenándolo con cuidado de que no se desplacen del centro de la cápsula. Luego se deja en estufa a 75° C durante 48 horas como mínimo.

Una vez endurecidos los bloques de araldita, se introducen en pequeños botes de cristal hasta el día de su estudio, en que en primer lugar se saca y se procede al tallado de los bloques de araldita mediante un Pyramitone 11800 de la casa LKB Blomma.

Seguidamente se realizan unos cortes ultrafinos con el Ultra-Microtomo C. Reichert, Austria Om u2, depositándolos sobre una rejilla, que es la que se lleva un microscopio electrónico de transmisión Em 301 de la casa Philips para su estudio.

El material fotográfico utilizado, fueron placas Kodak 6'5 x 9 cm.

Si las piezas a estudiar eran destinadas para el microscopio electrónico de barrido, los pasos a seguir para la preparación de las mismas, fueron idénticos al de la Microscopía electrónica de transmisión hasta la deshidratación con acetona 100° durante 30 minutos, seguidamente, las piezas son deshidratadas con acetato de amilo y desecadas por medio del punto crítico con CO₂, recubiertas con partículas de oro y carbón en un sombreador E-5.000 Polaron, siendo observadas en un microscopio de Scanning Philips 500 y fotografiada mediante material Polaroid.

Cuando las piezas eran destinadas a Microscopía óptica los pasos a seguir, fueron los siguientes:

- Fijación en formalina al 10 por 100.
- Inclusión en parafina, previa deshidratación en alcoholes sucesivos, y cortes de 5 m, utilizando las tinciones de hematoxilina-eosina y elastina Van-Gieson para la demostración de fibras elásticas.

Tablas resúmenes de las distintas series

Índice abreviaturas

T.I. en': *Tiempo intervención en segundos.*

T.S. en': *Tiempo sutura en segundos.*

T.C. en': *Tiempo clamp en segundos.*

C.A. en mm.: *Calibre arterial en milímetros.*

N.P.: *Número de puntos.*

N.C.L.: *Número colaterales ligadas.*

T.V.: *Torsión vaso.*

S.O.: *Sutura oblicua.*

A.P.: *Accidente peroperatorio.*

C.de S.: *Calidad de sutura.*

- Óptima: 3

- Buena: 2

- Regular: 1

- Mala: 0

T.: *Trombosis.*

M. del A.: *Muerte del animal.*

C. de M.: *Causa de la muerte.*

T. de S.: *Tiempo de sacrificio.*

D.P.: *Destino pieza.*

h.: *Horas.*

s.: *Semanas.*

d.: *Días.*

Hallazgos de la microscopía óptica

Serie de sacrificio a las 6 horas:

Se ven mononucleares y polinucleares recubriendo la capa endotelial, que está íntegra.

Puede verse material trombótico sin organizar.

Casi completa ausencia de células endoteliales desde zonas próximas a la línea de sutura.

La elástica interna está intacta en todos los casos.

Serie de sacrificio a las 24 horas:

Encontramos una persistencia continua de la lámina elástica interna.

No se aprecian células endoteliales en zonas próximas a la línea de sutura.

Asimismo, vemos la presencia de material trombótico sin organizar.

No hemos encontrado en esta serie, disrupción de la capa media.

Serie de sacrificio a los 7 días:

Encontramos una hiperplasia celular por encima de la lámina elástica interna, constituida por células de núcleos ovoideos, con

Serie primera

CASO nº	SEXO	PESO en gr	T. I. en'	T. S. en'	T. C. en'	C. A. en mm	N. P.	N. C. L.	T. V.	S. O.	A. P.	C. de S.	T.	M. de l. A.	C. de M.	T. S.	D. P.
1	H	135	55	16	27	0,9	6	3	-	-	-	3	-	-		6 h.	SEM
2	M	151	53	13	23	1	6	3	-	-	+	1	-	-		6 h.	SEM
3	M	126	57	12	25	0,8	6	3	-	-	+	2	-	-		6 h.	SEM
4	M	147	52	10	20	1	7	3	-	+	+	1	-	-		6 h.	SEM
5	H	113,5	57	15	26	0,8	6	2	-	-	+	3	-	-		6 h.	TEM
6	H	123	55	12	23	0,9	6	3	-	-	-	3	-	-		6 h.	TEM
7	H	147	50	8	16	1	6	1	-	-	-	2	-	-		6 h.	TEM
8	H	117	50	9	16	0,8	6	2	-	-	+	3	-	-		6 h.	TEM
9	H	143	52	12	20	0,9	7	3	-	-	-	3	-	-		6 h.	MO
10	H	124	47	9	16	0,9	6	3	-	-	-	3	-	-		6 h.	MO

transición a células de núcleos más alargados.

Las células endoteliales existentes en zonas próximas a la sección, presentan núcleos prominentes.

La lámina elástica interna, se encuentra interrumpida en la zona de los puntos.

La capa media, está fragmentada en zonas próximas a la arteriotomía. No se ven los núcleos de las células de músculo liso en la zona de puntos, posiblemente debido a un exceso de tensión al anudar los puntos de sutura.

Serie de sacrificio a los 14 días:

Una variable capa de células planas, forran la pared del vaso. Esta capa, tiene de 1 a 3 células en profundidad y algunas áreas de esas células semejan un endotelio normal. En otras áreas, los núcleos están anchos y pálidos y algunas células de revestimiento parecen fibroblastos.

Alrededor de los puntos de sutura, existe intensa fibrosis que se extiende hacia la muscular, quedando incluidas algunas fibras

Serie segunda

CASO n°	SEXO	PESO en gr	T.I. en'	T.S. en'	T.C. en'	C.A. en mm	N.P.	N.C.L.	T.V.	S.O.	A.P.	C.de S.	T.	M.de l A.	C.de M.	T.S.	D.P.
1	H	168	87	15	30	1,1	7	2	-	+	-	1	-	-		24 h.	SEM
2	M	199,5	85	18	33	1,2	8	1	-	+	-	1	-	-		24 h.	SEM
3	H	162	75	14	20	1,1	6	3	+	-	+	3	-	-		24 h.	SEM
4	H	159	50	12	18	1,2	6	2	-	-	-	3	-	-		24 h.	SEM
5	H	120	83	19	33	0,8	6	2	-	-	-	3	-	-		24 h.	TEM
6	M	116,5	77	16	26	0,8	7	2	-	-	+	0	-	-	Fallo de sutura		
7	H	117	90	24	35	0,8	6	2	-	-	+	1	-	-		24 h.	TEM
8	H	151	80	21	35	1	7	1	-	-	-	2	-	-		24 h.	TEM
9	H	181	87	20	38	1	8	2	-	+	+	0	-	-		24 h.	TEM
10	H	148	59	12	22	1	6	2	-	-	-	2	-	-		24 h.	MO
11	H	166	84	22	35	1	9	2	-	+	+	0	-	-		24 h.	MO

Serie tercera

CASO n°	SEXO	PESO en gr	T.I. en'	T.S. en'	T.C. en'	C.A. en mm	N.P.	N.C.L.	T.V.	S.O.	A.P.	C.de S.	T.	M.de l A.	C.de M.	T.S.	D.P.
1	M	180	71	16	25	1	6	1	-	-	-	2	-	-		1 s.	SEM
2	H	167	85	22	30	1	7	2	-	-	-	2	-	-		1 s.	SEM
3	H	179	75	12	20	1	7	1	-	-	-	2	-	-		1 s.	SEM
4	M	207	90	27	35	1,2	8	0	-	-	-	1	-	-		1 s.	SEM
5	H	235	110	35	43	1,2	7	3	-	-	-	2	-	-		1 s.	TEM
6	H	200	82	25	30	1,2	7	1	-	-	-	2	-	-		1 s.	TEM
7	H	143	95	17	37	0,9	7	4	-	-	-	2	-	-		1 s.	TEM
8	H	140	88	17	34	0,9	7	2	-	-	-	2	-	-		1 s.	TEM
9	M	184,5	80	17	35	1,1	7	1	-	-	-	2	-	-		1 s.	MO
10	H	162	85	17	35	1	9	3	-	-	-	1	-	-		1 s.	MO

musculares en el interior del tejido fibroso, que muestra signos degenerativos.

Serie de sacrificio a los 28 días:

Apreciamos un aumento de la población celular por encima de la lámina elástica interna, donde vemos células mononucleares de núcleos redondeados de pequeño tamaño y otras células de núcleos alargados, siendo algunos de ellos similares a los de las células de músculo liso y con un tamaño similar a los mismos, encontrándose estas últimas

siempre más próximas a la lámina elástica interna.

Este aumento de la celularidad, sólo lo hemos encontrado en la zona próxima a la línea de sutura.

En la zona más próxima a la luz, encontramos núcleos alargados y aplanados, típicos de células endoteliales.

Esta población celular, situada por encima de la elástica interna, está distribuida de una forma regular con un máximo de 2 a 4 células.

Serie cuarta

CASO n°	SEXO	PESO en gr	T.I. en'	T.S. en'	T.C. en'	C.A.	N.P.	N.C.L.	T.V.	S.O.	A.P.	C.de S.	T.	M.de l A.	C.de M.	T.S.	D.P.
1	H	184	103	31	43	1,1	5	1	-	-	-	2	-	-		2 s.	SEM
2	H	191	102	32	45	1,1	7	2	-	-	-	2	-	-		2 s.	SEM
3	M	173	90	16	30	1,1	6	1	-	-	-	2	-	-		2 s.	SEM
4	M	195	95	20	35	1,1	9	2	-	+	+	1	-	-		2 s.	SEM
5	M	186	105	15	37	1,1	6	1	-	-	+	2	-	-		2 s.	TEM
6	H	140												+	Anest.		
7	H	140												+	Anest.		
8	M	189,5	97	25	45	1,1	8	1	-	+	+	1	-	-		2 s.	TEM
9	H	219	103	30	43	1,2	8	1	-	-	+	2	-	-		2 s.	TEM
10	M	150	100	25	40	1	7	1	-	-	+	2	-	-		2 s.	TEM
11	M	125	102	27	45	0,7	8	1	-	-	-	2	-	-		2 s.	MO
12	H	144	106	30	46	0,9	6	2	-	+	+	2	+	-		2 s.	NO

Serie quinta

CASO n°	SEXO	PESO en gr	T.I. en'	T.S. en'	T.C. en'	C.A.	N.P.	N.C.L.	T.V.	S.O.	A.P.	C.de S.	T.	M.de l A.	C.de M.	T.S.	D.P.
1	M	267	109	37	48	1,3	10	0	+	+	+	2	-	-		4 s.	SEM
2	H	245,5	80	21	37	1,2	9	0	-	-	-	2	-	-		4 s.	SEM
3	H	240	120	28	45	1,2	10	0	-	-	-	2	-	-		4 s.	SEM
4	H	230	120	30	56	1,2	8	0	+	+	-	2	-	-		4 s.	SEM
5	H	214	118	25	51	1,2	9	0	-	-	+	2	-	-		4 s.	TEM
6	M	215	120	32	55	1,2	11	2	-	-	+	2	-	-		4 s.	TEM
7	H	232	90	16	29	1,2	8	0	-	-	-	2	-	-		4 s.	TEM
8	M	220	120	35	53	1,2	9	2	-	+	+	1		+	?		
9	H	190	90	25	40	1,1	7	0	-	-	-	1	-	-		4 s.	TEM
10	H	265	90	35	50	1,2	8	1	-	-	+	1	-	-		4 s.	MO
11	M	156,5	90	18	33	1	6	0	-	-	-	2	-	-		4 s.	MO

La capa media, mantiene ininterrumpidas sus fibras elásticas, estando éstas en número de 5 a 6 en esta raza de ratas.

Serie de aplicación del clamp:

No encontramos diferencias significativas entre la serie de aplicación del clamp durante 30 minutos y la serie en que se aplicó éste durante 60 minutos.

En ambas series, hemos encontrado infiltrados inflamatorios a nivel de la adventicia, así como una discreta duplicación de la lámina elástica interna y una mínima desorganización de las membranas elásticas, siendo más evidente y con edema intersticial en la serie en que se mantuvo el clamp durante 60 minutos.

Hallazgos de la Microscopía electrónica de barrido

Serie de sacrificio a las 6 horas:

Existe una ausencia absoluta de células endoteliales, desde áreas próximas a la zona de sección del vaso.

Los puntos de sutura, así como la brecha endotelial, están completamente cubiertos por una malla de fibrina, siendo ésta más densa sobre los puntos de sutura.

En la zona de emergencia del hilo de sutura, puede verse células sanguíneas de la serie blanca y plaquetas.

Serie de sacrificio a las 24 horas:

El aspecto es casi igual que a las 6 horas, aunque aquí las células sanguíneas de la serie blanca, son mucho más numerosas, estando muchas de ellas adheridas a la fibrina.

Las plaquetas son muy numerosas, tanto sobre la fibrina como sobre el endotelio próximo a la línea de sutura.

Serie de sacrificio a los 7 días:

Persiste la abundancia de células sanguíneas de la serie blanca, adheridas a las mallas de fibrina.

Sobre la línea de sutura, no existen células endoteliales, aunque en zonas próximas, puede verse crecimiento de células endoteliales.

Serie sexta

CASO n°	SEXO	PESO en gr.	T. I. en'	T. C. en'	C. A.	A. P.	T.	M. del A.	C. de M.	T. S.	D. P.
1	M	216	60	30	1,2	-	-	-		7 d.	TEM
2	M	243	60	30	1,3	-	-	-		7 d.	SEM
3	M	145	60	30	1	-	-	-		7 d.	SEM
4	M	155	60	30	1,1	-	-	-		7 d.	SEM
5	M	136	50	30	1	-	-	-		7 d.	MO
6	M	161	90	60	1,1	-	-	-		7 d.	TEM
7	M	154	90	60	1	-	-	-		7 d.	TEM
8	M	148	80	60	1	-	-	-		7 d.	SEM
9	M	127	80	60	0,9	-	-	-		7 d.	MO
10	M	151	80	60	1	-	-	-		7 d.	SEM

Serie de sacrificio a los 14 días:

Sobre la línea de sutura, existen células endoteliales, que recubren y sobrepasan dicha línea. Son células típicas endoteliales jóvenes, largas, aplanadas y protusivas en su zona central, siguiendo una dirección paralela al eje del vaso.

Se ven asimismo, algunas células sanguíneas de la serie blanca, libres y otras, parcialmente adheridas al endotelio mediante pseudópodos, localizándose más abundantemente sobre la línea de sutura.

Generalmente, las nuevas células endoteliales aparecen sobre un denso depósito de fibrina.

Sobre los puntos de sutura, sólo existe fibrina.

Serie de sacrificio a los 28 días:

La reendotelización es ya completa, tanto sobre la línea de sutura, como sobre los puntos de sutura, inclusive sobre aquellos que están discretamente elevados sobre la luz del vaso.

Las células que se localizan en la línea

de sutura, son las típicas células endoteliales jóvenes, permitiendo visualizarse sus uniones intercelulares.

Serie de aplicación del clamp:

No hemos encontrado diferencias apreciables entre las dos series de aplicación del clamp a diferentes periodos de tiempo de clampaje.

Asimismo, no hemos visto aplanamiento de las células endoteliales, ni descamación de las mismas, como otros autores tales como THURSTON (241) habían encontrado, por lo que nuestros resultados han sido los mismos en ambas series.

Hallazgos de la Microscopía electrónica de transmisión

Vemos, como de una célula inmadura muscular, denominada de esta forma por sus características citoplásmicas, dado que poseen multitud de miofilamentos, se transforma en una célula inmadura endotelial, ya

Tabla resumen de los hallazgos de la Microscopía electrónica de barrido

	Presencia de fibrina	Presencia de plaquetas	Presencia de células sanguíneas de serie blanca	Crecimiento de células endoteliales
6 horas	Abundante	Abundante	Escasas	No
24 horas	Abundante	Abundante	Abundante	No
7 días	Sí	Escasa	Abundante	Inicia
14 días	Sí	Escasa	Sí	Sí
28 días	No	No	No	Completo

Tabla resumen de los hallazgos de la Microscopía óptica

	Hiperplasia subintimal	Rotura de la lámina elástica interna	Disrupción de la capa media	Crecimiento de las células endoteliales
6 horas	No	No	No	No
24 horas	No	No	No	No
7 días	Sí	Sí	Sí	Inicios
14 días	Sí	Sí	Sí	Sí
28 días	Sí	No	No	Sí

que en este momento, la célula pierde miofilamentos, siendo desplazados a la periferia citoplásmica por el gran desarrollo del retículo endoplásmico rugoso. Finalmente, aparece la célula endotelial madura con existencia de vesículas de pinocitosis, escasos miofilamentos y presencia de retículo endoplásmico rugoso.

Discusión

En el desarrollo de este trabajo experimental, todos los animales intervenidos se hicieron siguiendo un mismo protocolo quirúrgico y utilizando unas técnicas quirúrgicas similares a fin de poder contrastar nuestros resultados con los existentes en la literatura mundial.

BAXTER y cols. (11), demostraron que la primera condición para que una anastomosis fuera satisfactoria, precisaba un afrontamiento correcto de los bordes seccionados, siendo quizá, uno de los factores más importantes en la prevención de trombosis durante la primera semana ulterior a la anastomosis. Entre los bordes de la arteria seccionada se forma un coágulo que posteriormente se organiza. Cuando los bordes arteriales no están bien afrontados, el trombo que se organiza es mayor, pudiendo ocluir total o parcialmente la luz arterial, de ahí la importancia que presenta el obtener un afrontamiento correcto de los extremos arteriales.

Por otra parte, nosotros también hemos comprobado que un exceso de tensión a la hora de anudar, provoca una superposición de los tejidos con incorrecta aposición de los bordes arteriales que ocasiona una mayor respuesta del coágulo fibrinoso pudiendo esto continuarse dentro de la luz del vaso.

Asimismo, el exceso de tensión se traduce en un pequeño desgarro de la íntima, con exposición del subendotelio que posee importantes factores trombogénicos. Este des-

garro, provocado por un exceso de tensión al anudar los puntos lo hemos podido constatar en algunas preparaciones de Microscopía electrónica de barrido.

Otro hecho comprobado, que puede originarse como consecuencia del exceso de tensión al anudar los puntos de sutura, es una estenosis de la túnica media, que conduce a fenómenos de necrosis de la misma. Sabemos por trabajos de BAXTER y cols. (11) y SPAET, GAYNOR y STEMERMAN (225) que es precisa una supervivencia de al menos una tercera parte de la media para que la reendotelización se produzca y no sobrevengan fenómenos oclusivos en el lugar de la anastomosis.

En alguna de las preparaciones de Microscopía óptica, hemos podido comprobar los efectos del exceso de tensión de los puntos a nivel de la túnica media, provocando estenosis de las fibras elásticas y colapso de los núcleos de las células de músculo liso.

Es indudable, que la realización de una técnica meticulosa y cuidadosa, reduce al mínimo las posibilidades de trombosis en las reparaciones microvasculares, no obstante y mediante los estudios histopatológicos, puede verse como aun con las técnicas quirúrgicas más meticulosas, los tejidos de los vasos sufren una ruptura apreciable.

En todos los animales de las diferentes series, se aplicó la misma técnica de sutura, siendo ésta la aconsejada por COBBETT (40) y denominada «biangulación excéntrica de 120°» ya que ofrece ventajas sobre las otras descritas, pues evita el riesgo de enganchar la pared posterior con la anterior al suturar ésta, como nos podría ocurrir si se utilizara la técnica de la formación cuadrangular.

Asimismo, esta técnica permite una más fácil manipulación del vaso y además facilita la sutura tanto de la cara anterior como de la posterior.

Por el contrario, la tracción realizada sobre los dos puntos tractores colocados a 120° puede originar un pequeño desgarro en la íntima del vaso.

Por otra parte, hemos desestimado todos aquellos métodos en los que para realizar la sutura se han utilizado moldes intraluminales, o tutores internos como el descrito por THAL y cols. (240), debido a la cantidad de problemas que su utilización nos puede depa-
rar, ya que se trata de un método engoroso, que alarga el tiempo de la intervención y sobre todo, precisa de múltiples manipulaciones en la luz arterial con riesgo de lesionar la íntima, lo que favorece la trombosis, asimismo al ser aplicado se mantiene fijo el tutor interno mediante lazadas circulares que pueden lesionar tanto la íntima como la media.

Una de las posibles dudas que se nos puede ofrecer a la hora de realizar una microsutura arterial, es si debemos de atravesar todo el espesor de la pared arterial, o bien pasar los puntos a través de la media sin llegar a lesionar la íntima.

BAXTER y cols. (11), demostraron que el exceso de puntos y el exceso de tensión al anudar el punto, puede originar una necrosis de la media, hecho que ocurría con mayor frecuencia si los puntos atravesaban sólo la capa media.

Por otra parte, el cierre de la capa íntima puede ser más imperfecto mediante esta técnica, pudiendo originar una mayor sangría en el momento en que se retire el clamp vascular, además expone una mayor cantidad de tejido colágeno en la luz arterial, pudiéndose por tanto originar fenómenos de trombosis.

Asimismo, el daño de la íntima, estaría provocado por la acción de la propia arteriotomía, siendo prácticamente nulo por el hecho de pasar los hilos de sutura a través de la misma, siempre y cuando no existiera un exceso de tensión en el hilo de sutura, provocado bien a la hora de anudar, bien en el momento de afrontar los bordes arteriales, o bien al aplicar la tensión sobre los puntos tractores en la técnica de la biangulación excéntrica de 120°.

Es sabido, que el efecto que produce el

nylon en la luz arterial es nulo, no ocasionando fenómenos de trombosis.

Por otra parte, PHELAN y cols. (198), demostraron que el nylon era el material que menos reacción tisular provoca.

Durante mucho tiempo se ensayaron diversos materiales de sutura, como fueron la seda, el catgut, el dacron, el alambre de acero inoxidable fino y el nylon, comprobándose que la seda provoca reacción de células gigantes a cuerpo extraño alrededor del material de sutura, siendo el riesgo de trombosis mayor que con los otros materiales de sutura (211).

El resto de los materiales, han sido desestimados en su uso. En la actualidad, parece ser que todos los autores coinciden en que es el nylon monofilamento el material de elección para las microsuturas vasculares, debido a que tan apenas provoca reacción a nivel de los tejidos. PHELAN y cols. (198).

Aunque el nylon, está considerado como una sutura no reabsorbible, parece ser que es lentamente descompuesta por los enzimas del cuerpo, mediante una despolimerización con absorción de monómeros y oligómeros.

Actualmente, el nylon monofilamento, ha sido aceptado por todos, no utilizándose ningún otro tipo de material, ni incluso dentro de las distintas formas de nylon como son el ethilon y el perlon. No obstante, estos materiales no reabsorbibles poseen ventajas y desventajas, concretamente, el nylon, tiene gran solidez y una menor reacción inflamatoria que los otros materiales, no se adhiere a los tejidos circundantes, y además posee una mayor duración. Sin embargo, el nylon, resulta difícil de anudar, retiene peor los nudos, y precisa traccionarse con mayor fuerza de los cabos.

Por su parte las suturas metálicas son extremadamente fuertes, retorciendo los tejidos debido a su nula elasticidad y son difíciles de manejar, por lo que actualmente han sido prácticamente desechadas.

La utilización del coagulador bipolar,

ampliamente difundida por la mayoría de los microcirujanos vasculares debe de evaluarse tanto en sus ventajas como por sus inconvenientes. En un trabajo experimental, publicado en 1976 por OSGOOD y cols. (190), vemos como el efecto de la coagulación bipolar de una rama colateral de la arteria femoral, provoca importante daño endotelial limitado a la colateral, provocando densos depósitos de fibrina, plaquetas y células sanguíneas de la serie roja, que llegaban a ocluir dicha colateral en su totalidad, pudiendo por tanto crecer este trombo y ocluir parcial o totalmente la luz de la arteria.

En nuestra experiencia, no hemos utilizado la coagulación bipolar para evitar dañar las células endoteliales y para evitar la posible formación de un trombo. En su lugar hemos disecado todas las colaterales que nos coincidían en el campo quirúrgico, realizando una ligadura proximal y distal a unos milímetros de su salida de la arteria aorta, mediante nylon monofilamento de 9-0, seccionando posteriormente entre las dos ligaduras mediante microtijera recta, no habiendo observado fenómenos de trombosis que emergiesen de dichas colaterales ligadas como podemos ver a Microscopía electrónica de barrido de una de las piezas de la serie 5.^a (Caso 4), donde en el margen superior de la fotografía vemos el nacimiento de una colateral totalmente libre de posibles coágulos.

Debido al efecto estimulante que ejerce la adventicia, por su gran riqueza en fibras colágenas, en la producción de una agregación plaquetaria y posterior trombosis del vaso, todos los autores están de acuerdo, en que la adventicia próxima a los bordes del vaso se debe de extirpar, bien mediante una circuncisión de los bordes, como recomiendan ACLAND (5) y BUNCKE (17), bien mediante una resección escueta de aquellas porciones de adventicia que se introducen dentro de la luz como aconseja O'BRIEN y cols. (168, 169), o bien mediante el rechazo de la adventicia hacia las ramas del clamp

con el fin de que pueda introducirse dentro de la luz, como aconseja DESSAPT (55).

Nosotros en todas nuestras series, hemos realizado una resección de la adventicia próxima a los bordes de la arteria con el mismo fin de evitar que ésta se introduzca dentro de la luz y pueda provocar fenómenos de agregación plaquetaria.

Hemos comprobado, que mediante una discreta tracción del tejido periadventicial, éste se prolapsa fuera del vaso pudiendo extirparse con facilidad. Por otra parte, hemos comprobado que esta maniobra daña muy levemente los *vasa vasorum*, no habiendo encontrado en ningún caso fenómenos de dilatación aneurismática en la zona de la sutura, dándonos de esta forma una cierta seguridad de que no van a quedar restos adventiciales en la luz del vaso.

Una de las posibles complicaciones que pueden surgirnos bien durante el acto quirúrgico, o bien en el postoperatorio inmediato, es la aparición de fenómenos de vasoespasmo de los bordes arteriales que se han de anastomosar.

Para resolver este problema, muchas han sido las soluciones propuestas:

- La utilización de clorpromacina en solución de 25 mg/cc, aplicándola mediante una gasa empapada en dicha solución sobre los bordes del vaso (41). Sin embargo, ACLAND (3), ha demostrado, que la utilización de la clorpromacina en vasos quirúrgicamente dañados, aumenta la producción de trombos.

- La colocación de una gasa empapada en solución de Ringer a 37° C durante 10 minutos.

- La aplicación de papaverina a dosis de 40 mg/cc o bien de lidocaina o procaina (sin epinefrina) en solución al 2 por 100 directamente sobre el vaso. En contraposición a esto, MEHL y cols. (147), demuestran los efectos negativos de la procaina.

- La utilización del sulfato de magnesio en solución isotónica al 3'5 por 100 me-

diente goteo sobre los bordes del vaso durante 30 minutos. (ACLAND, 2).

— El uso de vasodilatadores como el beniclan o antiespasmódicos como la eupaverina. (MORELLI, 150).

— La provocación de una dilatación hidrostática, mediante la introducción de una solución líquida dentro de la luz arterial a una presión determinada, suficiente para provocar dicha dilatación.

— Por último, la provocación de una dilatación paralítica de los extremos seccionados, mediante la introducción de las ramas de una micropinza especialmente diseñada para tal función y que no lesiona la íntima del vaso.

En nuestra opinión, pensamos que este último método es el mejor, ya que por una parte provoca una vasodilatación de los extremos arteriales seccionados con un efecto que dura horas, lo que nos permite practicar la microsutura arterial sin riesgos de vasoespasmo y además nos asegura que en el postoperatorio inmediato, esta complicación no se vaya a producir. Por otra parte, evitamos la introducción de sustancias químicas en la luz del vaso, que indudablemente puede producir fenómenos irritativos de las células endoteliales y ser causa de rotura del revestimiento endotelial, con exposición del subendotelio dentro de la luz, como demuestran FONKALSRUD y cols. (68).

Asimismo, O'BRIEN (175) comenta, que sustancias químicas o medicamentos que son relativamente bien tolerados por la circulación normal, pueden resultar tóxicos cuando se perfunden en los tejidos de una zona isquémica, o cuando se ponen en contacto con microvasos de una zona isquémica. Por otra parte, apenas se han estudiado los efectos de sustancias químicas en la microcirculación, por lo que cualquier sustancia que no haya sido demostrada como inocua, deberá considerarse como parcialmente tóxica.

Desde nuestro punto de vista, creemos

que el campo quirúrgico debe de permanecer exangüe en todo momento, con el fin de evitar el espasmo de la pared arterial, que puede producirse cuando la sangre está en contacto directo con ella, para lo cual una disección cuidadosa y una buena hemostasia, pueden ser suficientes, no obstante, es importante extraer, asimismo, la sangre del interior de la arteria que se va a suturar y para ello, pensamos que de los diferentes métodos existentes, desde nuestro punto de vista, la irrigación a distancia con un pequeño chorro de suero salino sin llegar a introducir la pequeña aguja dentro de la luz arterial, puede ser suficiente y menos traumatizante que la maniobra del «Milking», propuesta por WESSTER (259) y la escuela de Glasgow en la que cada extremo arterial es materialmente exprimido contra el brazo del microclamp de su mismo lado, pudiéndose lesionar el revestimiento íntimo de la arteria.

En contraposición al método utilizado por nosotros, O'CONNELL y cols. (186), demuestran que el revestimiento endotelial puede ser dañado por la perfusión de suero salino fisiológico debido a su pH bajo y a otros factores tales como la osmolaridad. Esta lesión del revestimiento endotelial permite la penetración de anticuerpos dentro de la pared de la arteria, potenciando el daño inmunológico, por el efecto dañino de los anticuerpos.

Por otra parte, este autor ha demostrado, mediante estudios de Microscopía electrónica de barrido, que sobre la íntima arterial se producen importantes alteraciones topográficas después de la perfusión de la arteria con suero salino, provocándose una desorganización en la orientación de las células endoteliales y que es más marcada, cuando la perfusión ha sido más prolongada. Tales cambios estructurales sobre la íntima, pueden causar realmente alteraciones hemodinámicas. Las turbulencias de esta forma producidas, pueden causar daño endotelial por sí mismas, o bien por el efecto que pro-

vocan los remolinos, todo ello, permite a las plaquetas y a las células sanguíneas de la serie blanca adherirse mejor en los complejos antígeno-anticuerpo, sobre la superficie de las células endoteliales.

Mediante un estudio con Microscopía óptica, han apreciado una importante hiperplasia subintimal, que aumenta en espesor conforme aumenta el tiempo de exposición con el suero salino, pudiendo llegar, incluso, a ocluir la luz del vaso.

En mi opinión, ésta podría ser una teoría distinta a las conocidas hasta la fecha, y que tratan de explicar la hiperplasia subintimal, como un proceso reparador de los elementos que constituyen la túnica media frente a la agresión. Por el contrario, O'CONNELL y cols. (186), lo explicarían como una reacción inmunológica por penetración de anticuerpos humorales en la pared arterial.

Sabemos por estudios experimentales, realizados por CONSTANTINIDAS y ROBINSON (47), LITTLE y cols. (135), que la perfusión de una arteria con una solución ácida, provoca rotura del revestimiento endotelial con exposición de la capa subendotelial en la luz del vaso, siendo reemplazada la población de células endoteliales por redes de fibrina y plaquetas, llegando a poderse producir un trombo con características similares a las que aparecen tras una endarterectomía. Efectos similares a los referidos, pueden aparecer cuando el vaso es perfundido con una solución de dextrosa. MOSELEY y cols. (152).

En todos los animales intervenidos por nosotros, la extracción del coágulo posterior a la arteriotomía la efectuamos mediante el lavado a discreta presión con suero fisiológico, hasta conseguir extraer todos los coágulos existentes en el interior de la luz arterial, secando posteriormente el campo microquirúrgico.

No obstante, aun a pesar de que el contacto del suero salino con la íntima arterial ha sido muy reducido en el tiempo, podría

haber sido suficiente para desencadenar una reacción de tipo inmunológico, según la teoría de O'CONNELL; sin embargo, nosotros, creemos que la hiperplasia de la subíntima, parece deberse a una reacción remodelante de los componentes de la media con producción de fibras elásticas, como pudimos apreciar en uno de los animales de experimentación de la serie 5.^a con sacrificio a las 4 semanas (caso 11).

Uno de los factores que influyen de forma desfavorable sobre el revestimiento de la capa íntima de los vasos, es la isquemia.

Este hecho se produce en el momento en que se coloca un microclamp sobre la pared arterial.

El efecto que provoca el microclamp sobre la pared arterial es doble:

– En primer lugar, su acción mecánica de presión, que puede dañar las diferentes capas del vaso.

– En segundo lugar, la isquemia a la que se somete el propio vaso cerrando su aporte vascular de los *vasa vasorum* durante el tiempo que se mantiene colapsado el vaso por la acción del microclamp.

En nuestro estudio, hemos realizado una serie paralela a las restantes para objetivar el efecto que provoca el clamp sobre la arteria.

Nuestros hallazgos han sido parecidos a los encontrados en la literatura revisada. Así THURSTON y cols. (241) encuentran una dilatación fusiforme de la pared arterial, secundarias a necrosis de la media, con pérdida de los pliegues longitudinales y descamación endotelial. Por su parte, BAXTER y cols. (11) muestran que como consecuencia de los efectos de la presión mantenida del clamp sobre la pared arterial, se produce una disrupción y necrosis de la adventicia y una reduplicación de una pequeña porción de la lámina elástica interna. Por el contrario no encuentra lesión sobre la capa media. Sin embargo, OSGOOD y cols. (190), sí que encuentran extensas áreas dañadas a nivel

de la capa media, que se caracterizaba por una disrupción y separación de la capa de músculo liso con extravasación de células rojas dentro de ese espacio.

En nuestras series realizadas, no hemos encontrado diferencias apreciables, entre las que habíamos mantenido la arteria clampada durante media hora y las que lo habían estado una hora.

Asimismo, hemos visto en algún punto concreto, una reduplicación de la lámina elástica interna. La capa media, en todos los casos, se apreciaba una discreta desorganización de las fibras elásticas, que llegan a perder su continuidad en algún punto determinado.

Sobre la capa íntima y adventicia, no hemos encontrado lesión evidente, a excepción de la serie en que se mantuvo la arteria clampada durante un mayor tiempo, y en la que sobre la íntima hemos visto figuras de duplicación con proliferación celular a ese nivel.

Parece ser, que las alteraciones del flujo sanguíneo a través de los *vasa vasorum* que se producen por la acción del microclamp, provocan cambios en la capa media y subintimal, debido al efecto isquemante producido, como así lo demostraron FONKALSRUD y cols. (68), PERLOFF y cols. (196).

Todo ello provoca cambios en la permeabilidad de la íntima pudiendo producirse unas ampollas sobre la propia íntima y un ensanchamiento de la subíntima por insudación de plasma. Estas ampollas, pueden en un momento determinado romperse, dando lugar a los cráteres que se aprecian en los estudios realizados mediante Microscopía electrónica de barrido por diversos autores como GREGORIUS y RAND (84 y 85); NELSON (162); KJELSDEN y THOMSEN (128); GERTZ y cols. (73).

Por otra parte, la acción mecánica del propio clamp, provoca el aplastamiento de las células endoteliales, con su correspondiente alteración del flujo sanguíneo y des-

camación de las propias células endoteliales, pudiendo quedar el subendotelio expuesto, con la consiguiente atracción plaquetaria y formación posterior de un trombo; hechos probados y demostrados por autores como OSGOOD y cols. (190), THURSTON y cols. (241).

Por todo ello, coincidimos en la opinión de THURSTON, viendo, que efectivamente el hecho de colocar un clamp, provoca una lesión sobre la pared del vaso que deberíamos de tratar de reducir al mínimo, para lo cual debemos mejorar los materiales y las condiciones de fabricación de un microclamp.

BAXTER y cols. (11), (1972), establecen una serie de condiciones necesarias que deben requerirse ante una sutura vascular, para reducir al mínimo la respuesta reparadora de las paredes vasculares y evitar en lo posible los fenómenos trombóticos.

Para ello considera imprescindible que al realizar la sutura de los cabos vasculares, se hiciese con la máxima exactitud posible en el momento de realizar la aposición de los bordes seccionados. Cuando el afrontamiento de los extremos es insuficiente, el coágulo que se produce es mayor, pudiendo extraerse por los bordes llegando a originar un trombo fibrinoso que casi invariablemente ocluye la luz del vaso.

Nosotros hemos comprobado, que efectivamente un cierre deficitario de los extremos vasculares, ocasiona una oclusión de la luz del vaso, como nos ha ocurrido en la serie (Cuarta), en uno de los animales destinados al estudio mediante Microscopía óptica; comprobamos que el «gap» existente entre los extremos, fue el origen de la trombosis, apreciándose como efectivamente el trombo nace en el mismo defecto de cierre de las paredes del vaso.

Por el contrario, la inversión o eversión de los bordes del vaso, debido a un defecto en la aposición de los bordes suturados, sin inclusión de adventicia dentro de la luz, no provoca trombosis masiva aunque sí este-

nosa discretamente la luz arterial como podemos comprobarlo en nuestras series con sacrificio a la semana y a las tres semanas.

En un caso con sacrificio a las seis horas, vemos un deficiente afrontamiento de los bordes con inversión de los extremos aunque este caso no sería valorable para precisar si puede dar origen a una trombosis por su precocidad en el sacrificio.

En nuestra opinión, un defecto en la aposición de los bordes, no es de forma inexorable, causa de trombosis, ya que la inversión o eversión sin inclusión de adventicia de los bordes dentro de la luz, no llega a originar trombosis de la totalidad de la luz aunque es posible que la llegue a estenotar.

Uno de los factores que ACLAND apunta en un trabajo realizado con microscopio óptico en anastomosis microvasculares experimentales (4), encuentra dehiscencia de la sutura, achacando este hecho a una combinación de factores mecánicos como pudieran ser los cambios producidos en las paredes arteriales como consecuencia de la onda pulsátil, pudiendo esto ocasionar falsos aneurismas o invasión de la luz por el tejido cicatricial.

Sin embargo, nosotros no hemos llegado a encontrar en ninguno de nuestros casos una dehiscencia de la línea de sutura, no habiendo tenido ningún caso de aneurisma durante el postoperatorio, ni hemos tenido ningún caso en que la luz arterial haya quedado estenosada como consecuencia del tejido cicatricial producido por la dehiscencia. El único caso en que hemos tenido una trombosis que ocluía la totalidad de la luz, lo hemos achacado a una incorrecta aposición de los bordes de sutura que dejó un «gap» entre los extremos, permitiendo la introducción de adventicia dentro de la luz, organizándose un coágulo entre los extremos que llegó a ocluir la totalidad de la luz arterial.

En relación a las necrosis de la media, todos los autores están de acuerdo en que

ésta siempre aparece, lo que ya no está tan claro es su mecanismo de aparición.

Para BAXTER y cols. (11), el número, la colocación, y la tensión de las suturas es el condicionante para que ésta aparezca.

Por el contrario ACLAND (4), piensa que la necrosis de la media podría ser debida al efecto de la presión o a la hipooxia que provoca el hecho del clampaje, así como la dilatación mecánica que se hace para conseguir tener las paredes separadas a la hora de realizar la sutura, y también por el trauma químico que provoca las diferentes sustancias que se utilizan durante el acto quirúrgico.

Nosotros hemos encontrado necrosis de la media en aquellos casos en que los puntos de sutura estenosaban la media por haber sido anudados con excesiva tensión, como podemos ver en los casos que hacen el número 10 de las series con sacrificio a las seis horas y a las cuatro semanas, donde además existe una deficiencia en la aposición efectiva de los bordes seccionados, lo cual y en opinión de BAXTER y cols. (11) aumenta el grado de necrosis de la media. Por este mismo autor y por trabajos de SPAET y cols. (225), sabemos que si no sobrevive por lo menos una tercera parte de la capa media, la reendotelización no se produce y además sobreviene de forma invariable la oclusión de la anastomosis.

En nuestra opinión, vemos que un conjunto de factores pueden influir en la aparición de necrosis sobre la capa media: Un excesivo número de puntos de sutura, un exceso de tensión al anudar los puntos de sutura, la falta de aporte de oxígeno por la acción del clamp vascular, el efecto que provoca la dilatación mecánica de los bordes seccionados, la perfusión con sustancias químicas que puedan ser tóxicas para el endotelio vascular.

Sin embargo, y aun a pesar de haber utilizado en todos los casos de nuestras distintas series el método de dilatación mecánica de los extremos seccionados con el fin de

provocar una dilatación parálitica, no hemos encontrado en ningún caso alteración de los componentes de la pared arterial, no habiéndose registrado necrosis de la media más que en aquellos casos donde fue excesiva la tensión a la hora de anudar los cabos.

Un hecho observado en alguno de nuestros casos, como lo son el número 11 de la serie con sacrificio a las 24 horas, y el número 10 de la serie con sacrificio a la semana, y que coincide con los hallazgos encontrados por ACLAND (4), consiste en unos pequeños defectos a cada lado de la sutura localizados en la capa media y que parecen ser provocados por la acción del paso de la aguja. Estos agujeros, son vistos a Microscopía óptica, no siendo teñidos y probablemente rellenos desde un principio por agregados plaquetarios.

No obstante, nosotros pensamos que la necrosis de la media no es un hecho que deba ocurrir siempre, sino que por el contrario, sólo se produce si no se ha aplicado una técnica correcta con manejo poco cuidadoso y a la vez lento durante el acto quirúrgico, no olvidando que las perfusiones pueden ser perjudiciales para la íntima arterial y que sustancias o medicamentos, que son relativamente bien tolerados por la circulación normal, pueden hacerse tóxicas cuando se perfunden en los tejidos de una zona isquémica o cuando se ponen en contacto con microvasos de una zona isquémica.

Por último, y de acuerdo con la mayoría de los autores, vemos que el grado de lesión de la media, es el factor principal para determinar el éxito de las anastomosis.

En lo concerniente a la «Hiperplasia de la Subíntima», podemos decir que se trata de una reacción hiperplásica de los constituyentes de la capa media en un intento de reconstrucción, tanto de la capa media como de la lámina elástica interna que del mismo modo había sufrido la acción del agente traumatizante. Las células que la componen son células de músculo liso y fibroblastos pudiéndose ver fibrillas de elastina.

Para CHIGNIER y cols. (35), la hiperplasia subendotelial se debe asimismo, a un fenómeno de reconstrucción de la pared, comentando que las células fibroblásticas que recubren los hilos de sutura sirven de punto de partida para la regeneración de la pared, multiplicándose de una forma exuberante a la vez que lo hacen las células endoteliales.

En un trabajo realizado por DAVIES y cols. (52), practican una lesión en el revestimiento endotelial de la aorta del cerdo después de realizar una sección longitudinal de la pared de la aorta, encontrando a los tres días de la lesión inicial, una importante hiperplasia subintimal con unas características muy similares a las encontradas por nosotros en nuestras series.

Para BUCK (15), la hiperplasia de la subíntima, no es debido a la hiperplasia de las células endoteliales, sino que por el contrario, es debido al crecimiento de una célula derivada del músculo liso de la túnica media, introduciendo el término de células de la «mio-íntima».

BAXTER y cols. (11), también encuentran la existencia de fibrillas de elastina en el espesor de la zona hiperplásica subendotelial, llegándose éstas a concentrar bajo el endotelio.

Nuestros hallazgos en relación con la hiperplasia subintimal, son superponibles a los mencionados por BAXTER, habiendo encontrado asimismo células de músculo liso, fibroblastos y fibrillas de elastina, aunque éstas estaban en todo el espesor de la zona hiperplásica.

Por el contrario, encontramos cierta discrepancia en cuanto a la causa productora de la hiperplasia, ya que, en el trabajo de DAVIES y cols. (52), se lesiona ampliamente el endotelio sin tocar tan apenas las restantes capas a excepción de la arteriotomía longitudinal que se realiza para proceder a lesionar ampliamente la íntima, apreciándose en todos los casos una manifiesta hiperplasia subintimal a partir del coágulo mural que se organiza.

Para CHIGNIER y cols. (35), son los fibroblastos que recubren los hilos de sutura los promotores de la respuesta hiperplásica.

Mientras que para BAXTER y cols. (11) es una reacción hiperplásica de los constituyentes de la media.

En nuestra opinión, pensamos por los hallazgos con el microscopio óptico de células de músculo liso, fibroblastos y fibrillas de elastina, que efectivamente la hiperplasia subendotelial sería una respuesta de la capa media en un intento de reparar la agresión sufrida por la lámina elástica interna.

Uno de los puntos en donde existe mayor disparidad de criterios es el tiempo de aparición de las nuevas células endoteliales sobre la zona lesionada de la íntima arterial.

BUCK (15), publica en 1961 un trabajo experimental realizado sobre arteria carótida de rata, donde aísla un segmento de arteria entre dos ligaduras, encontrando crecimiento celular sobre la capa necrótica a las 24 horas, adoptando a las 48 horas una disposición homogénea esas nuevas células. Para este autor, esas células eran macrófagos.

Para DAVIES y cols. (52), el tiempo de aparición de las nuevas células endoteliales, es de tres días.

HARASHINA y cols. (93), consideran que la pseudoíntima está completada dentro de los primeros cinco días.

THURSTON y cols. (241), realizan un estudio experimental sobre arteria femoral de rata para ver el daño que provoca la utilización del microclamp sobre la pared arterial, apreciando una reendotelización completa de la íntima a la semana de su colocación.

Para BAXTER y cols. (11), el crecimiento de las nuevas células endoteliales, comienza entre los 8 y los 12 días después de la cirugía y lo hace desde los bordes de la lesión.

Asimismo, SERVANT y cols. (212), coinciden en que en el período de una semana, la reendotelización ya ha sido completada.

Otros autores como MURRAY y cols.

(154), dan un tiempo superior a los autores hasta ahora referidos, considerando ya completa la reendotelización a las dos semanas.

Por último, POOLE y cols. (199), consideran que hasta las 33 semanas (230 días) después de la lesión causada en la aorta del conejo, la reendotelización no es completa.

En nuestra opinión y basados en los hallazgos de Microscopía electrónica de barrido y Microscopía óptica, vemos que a la semana de la cirugía, existen algunas células neo-endoteliales en fases muy inmaduras, distribuidas de forma desordenada sobre la zona de lesión y sin guardar una orientación paralela al eje del vaso.

Por el contrario, a las dos semanas podemos ver multitud de células endoteliales jóvenes atravesando la zona de sección de la arteria y con una orientación totalmente correcta, paralela al eje del vaso.

A las cuatro semanas, la mayoría de las células endoteliales son ya maduras, alternándose con otras jóvenes y cubriendo los hilos de nylon, a excepción de aquellos que adoptan una posición más elevada y donde las nuevas células endoteliales sólo llegan a insinuarse en un intento de recubrirlos en su totalidad.

Pero es el origen de esas nuevas células endoteliales, el capítulo más importante y el más discutido, no habiéndose puesto la mayoría de los autores de acuerdo en cuál es el verdadero origen de las mismas.

Podemos decir que son tres las teorías, que tratan de explicar cuál es el verdadero origen de la célula endotelial.

Fue POOLE y cols. (199) en 1958, el primero que realizó un estudio experimental, tratando de encontrar el origen de la célula neo-endotelial; para ello, provocaba una lesión por rascado a distancia en la aorta del conejo y que afectaba únicamente a la capa endotelial. Estudiaba bajo Microscopía óptica, las diferentes piezas con distintos tiempos de sacrificio, apreciando que aún después de 7 meses el neo-endotelio no cubría

completamente el defecto producido (1 cm aproximadamente). Como resultado, encuentra que las células neo-endoteliales eran reproducidas por división mitótica de las células endoteliales preexistentes.

A favor de esta teoría, son muchos los autores que intentan explicar el origen de esas nuevas células endoteliales, entre los que podemos citar, están: FLOREY y cols. (66, 67), MAC-KENZIE y cols. (137), YOUNG y cols. (263), BAXTER y cols. (11), O'BRIEN (177), THURSTON y cols. (241), DAVIES y cols. (52), aunque este último, acepte también como posible, la teoría propuesta por GHIANI y TIBBS (74).

En 1961, BUCK (15) publica un artículo sobre un trabajo experimental, realizado en arteria carótida de rata, donde aísla un segmento determinado de arteria (entre 5 y 10 mm) entre dos ligaduras de seda, comprobando que al poco tiempo de la inserción de las ligaduras, la capa endotelial allí localizada, se necrosaba de forma invariable. No obstante, a las 24 horas después de la operación, nuevas células se adherían a la capa necrosada. Estas células eran macrófagos; intentando averiguar el origen de esos macrófagos, modifica el experimento, para lo cual, coloca cuatro ligaduras alrededor de la arteria, aislando tres segmentos, demostrando que el crecimiento celular continúa, por lo que no pudo ser a expensas de las células endoteliales de la proximidad, debido a que se lo impedían las barreras mecánicas de las ligaduras. En otra serie diferente, lava la sangre fuera de la arteria con cloruro sódico al 9 por 100 antes de realizar la doble ligadura y no encuentra macrófagos, tanto en los animales sacrificados a los dos días como en los sacrificados a las dos semanas.

Todo lo cual corrobora la posibilidad de que el origen de esas células (macrófagos) fueran los monocitos existentes en la sangre situada en la luz del vaso, aunque admite también la posibilidad de que los monocitos, puedan proceder de otros lugares como

sería por la inflamación a través de la túnica media.

Sin embargo, la teoría del origen de las células endoteliales a expensas de las células sanguíneas mononucleares circulantes más conocida, es la de GHIANI y TIBBS (74), quienes la publicaron un año más tarde (1962) en el «*Brithis Medical Journal*» y demostraron en su trabajo experimental, que las células sanguíneas de la serie blanca, eran capaces de transformarse en macrófagos, fibroblastos y células endoteliales.

Otros autores que participan de esta teoría son STUMP (232), DAVIES y cols. (52), MILWARD y RAYNER (148).

Nuestros estudios morfológicos, nos sugieren que las nuevas células endoteliales puedan tener un doble origen. En primer lugar, parece lógico, que el crecimiento de esas nuevas células endoteliales sea a expensas de las propias células endoteliales intactas, localizadas en las márgenes de las áreas denudadas de la pared del vaso, como hemos apreciado en los estudios realizados con el Microscopio electrónico de barrido, donde desde la segunda semana del sacrificio del animal, vemos como el crecimiento de las nuevas células endoteliales es desde zonas adyacentes el defecto provocado por la cirugía, apreciando, como parece ir completándose el neo-endotelio mediante un crecimiento relativamente ordenado y en extensión, hasta completar en su totalidad la zona lesionada.

En segundo lugar, y basados en los hallazgos de la Microscopía electrónica de transmisión, pensamos que las nuevas células endoteliales, proceden de células musculares inmaduras, también denominadas células mioíntimas, o células subendoteliales. Estas células, son así denominadas, por sus características citoplásmicas, ya que poseen multitud de miofilamentos.

Estas células musculares inmaduras, van perdiendo miofilamentos, desplazándolos a la periferia citoplásmica, debido al gran de-

sarrollo del sistema retículo endoplásmico rugoso, transformándose en células endoteliales inmaduras.

Finalmente, estas células endoteliales inmaduras, se transforman en células endoteliales maduras, encontrándose en su interior, vesículas de pinocitosis, pocos miofilamentos y presencia de retículo endoplásmico rugoso.

GÓMEZ ALONSO (78), considera que el endotelio vascular, permite y facilita la fluidez de la sangre, debido a que el endotelio vascular no es mojable, pero que cualquier lesión de la íntima, provocaría modificaciones electrostáticas a nivel de las membranas celulares, alterando el normal metabolismo endotelial y transformándolo en mojable.

Después de los últimos trabajos de MARTIN (144), tenemos conocimiento que en el endotelio de los vasos se genera una sustancia activadora, capaz de convertir el plasminógeno en plasmina activa. Recientemente, VANE y MONCADA (248), encuentran una sustancia que se genera en la pared vascular, denominada prostaciclina (PGI_2) inhibidora de la agregación plaquetaria. Parece ser que el papel tromborresistente del endotelio, está en relación con dos sustancias que se mantienen de forma equilibrada (prostaciclina y tromboxano A_2) ambas de acciones contrapuestas, pero las dos procedentes del ácido araquidónico.

Por todo ello, el clásico factor parietal, no lo debemos considerar como una simple capa de células, sino más bien, como un sector de funciones complejas y en gran parte todavía desconocidas.

Finalmente y a nuestro juicio, consideramos la gran importancia que posee la microcirugía, no sólo en el campo de la Traumatología y la Ortopedia, sino en la gran mayoría de las especialidades quirúrgicas. Aquellos milagros realizados por San Cosme y San Damián quienes trasplantaron la pierna de un negro, delante de su superior, en la actualidad pueden ser logrados de una

forma científica perfectamente sistematizada y reglada, mediante la aplicación de técnicas microquirúrgicas.

En nuestra especialidad de Traumatología y Ortopedia el campo es amplísimo, habiendo adquirido hoy cotas de importancia, dada la abundancia con que se produce el accidente laboral, y siendo quizás la mano, uno de los órganos más expuestos a sufrir la agresión.

La aplicación clínica de estas técnicas, permite reimplantar un miembro amputado, así como cubrir defectos importantes en la mano, mediante trasplantes de uno o varios dedos de un pie a la mano. Por otra parte, es posible cubrir un importante defecto cutáneo mediante la utilización de trasplantes libres, evitando períodos prolongados de inmovilización y disminuyendo el número de tiempos quirúrgicos que eran precisos con otras técnicas.

Otra de las posibilidades que ofrecen estas técnicas ya dentro del campo de la Ortopedia, son los trasplantes microvasculares para el tratamiento de parálisis flácidas HARIJ y cols. (96) o el trasplante de músculo libre para resolver problemas graves como sería la contractura isquémica de Volkmann's (IKUTA y cols. (114).

Por último, también existe la posibilidad de realizar trasplantes microvasculares de hueso y articulaciones, mediante técnicas microquirúrgicas, pudiendo resolverse de esta forma bien sean problemas graves de pseudoartrosis infectadas o no, así como importantes defectos óseos, o intentar resolver necrosis primitivas o postraumáticas de cabeza femoral.

Los hallazgos obtenidos en el desarrollo de esta tesis doctoral, están basados en la experimentación mediante animales experimentales, como la rata Wistar que nosotros hemos utilizado. Sin embargo, debemos tener precaución en la interpretación de estos hallazgos en relación con su aplicación a la clínica humana.

Sabemos que las arterias de las ratas, poseen unas paredes más delgadas que los vasos humanos de similar diámetro, por otra parte, la presión sistólica sanguínea humana, es sólo ligeramente mayor que en la rata, y finalmente el pulso humano es más lento que en la rata.

Conclusiones

— Un exceso de tensión de las suturas, provoca estenosis en la capa media, con necrosis parcial de la misma. Si la necrosis de la capa media es excesivamente amplia, provocará una trombosis de la luz arterial.

— Consideramos el nylon monofilamento, como material idóneo, entre los actuales, para realizar técnicas de microcirugía vascular.

— La ligadura simple de las ramas arteriales colaterales, no provoca fenómenos de trombosis.

— La adventiciectomía circuncisiva, no provoca fenómenos de dilatación aneurismática.

— La dilatación paralítica de los extremos seccionados del vaso, permite obtener resultados muy beneficiosos frente a los fenómenos de vasoespasmo.

— El proceso de reendotelización de la íntima arterial, está en proporción directa con la calidad de la sutura efectuada.

— La aplicación de un microclamp, no es inocua, por lo que su utilización debe ser restringida en el tiempo de aplicación.

— El excesivo número de puntos y el exceso de tensión al anudar los puntos, son factores determinantes de aparición de necrosis de la media.

— El éxito de las anastomosis, está en relación directa con el grado de lesión de la media.

— La hiperplasia subintimal, sería una respuesta de la capa media en un intento de

reparar sus componentes, habiendo encontrado por debajo del endotelio y por encima de la lámina elástica interna, células de músculo liso, fibroblastos y fibrillas de elastina.

— La hiperplasia subintimal no aparece hasta los siete días de la agresión quirúrgica, manteniéndose posteriormente en el tiempo.

— La lámina elástica interna, aparece interrumpida hasta las cuatro semanas de la intervención, siendo a partir de entonces reparada por el proceso de cicatrización.

— La disrupción de la capa media, no aparece hasta pasadas las 24 horas de la intervención, normalizándose posteriormente a las cuatro semanas de la agresión quirúrgica.

— El tiempo de aparición de las nuevas células endoteliales es de dos semanas.

— Encontramos gran cantidad de material fibrinoide sobre la superficie endotelial, en las primeras 24 horas después de la intervención, disminuyendo progresivamente, hasta su total desaparición a las 4 semanas de la intervención.

— La presencia de plaquetas sobre la superficie endotelial es muy abundante en las primeras 24 horas de la intervención, siendo posteriormente, escasa su presencia.

— Hemos encontrado abundancia de células sanguíneas de la serie blanca, entre las 24 horas y las dos semanas posteriores a la intervención, localizadas sobre la superficie endotelial de la luz vascular.

— Mediante los hallazgos encontrados en la Microscopía electrónica de barrido y la Microscopía óptica, vemos que el proceso de reendotelización de la íntima arterial, comienza a los 7 días de haberse provocado la lesión del endotelio vascular y podemos considerarlo completado a las dos semanas de la agresión quirúrgica.

Asimismo, consideramos que el origen de las nuevas células endoteliales, es, fundamentalmente a expensas de las células endoteliales indemnes de la vecindad.

BIBLIOGRAFIA

1. ACLAND, R. D. (1980): *Arterial anastomosis: Common femoral artery*. In *Microsurgery Practice manual*. Ed. C.V. Mosby Company. St. Louis. Toronto. London. 58-59.
2. ACLAND, R. D. (1972): Prevention of thrombosis in microvascular surgery by the use of magnesium sulfate. *Br. J. Plast. Surg.* 25: 292-299.
3. ACLAND, R. D. (1973): Thrombosis formation in microvascular surgery: An experimental study of the effects of surgical trauma. *Surgery*, 73: 766-771.
4. ACLAND, R. D.; TRACUTENBERG, L. (1977): The histopathology of small arteries following experimental microvascular anastomosis. *Plastic and Reconstructive Surgery*, Vol 59: 868-875.
5. ACLAND, R. D. (1980): *Arterial anastomosis: Common femoral artery*. In *Microsurgery Practice manual*. The C.V. Mosby Company. St. Louis. Toronto. London. 38-57.
6. ANDERL, H. (1973): Reconstruction of face through cross face nerve transplantation in facial paralysis. *Chir Maxillofac. Plast. Vol. 2*: 17-21.
7. ANDROSOV, P. I. (1956): New methods of surgical treatment of blood vessel lesions. *Arch. Surg.* 73: 902-917.
8. BALFOUR, W. (1814): Two cases, with observations, demonstrative of the powers of nature to reunite parts which have been, by accident totally separated from the animal system. *Edinburgh Med. Surg. J.*, 10: 421-430.
9. BARNART, J. and BAECHLER, L. (1978): Endothelial cell physiology, perturbations and responses. *Seminars in thrombosis and hemostasis. Univ. Sch. Med. Detroit Mich.*, 5: 2 (Fall), 50-86.
10. BARRAQUER, J. I. (1956): The microscope in the ocular surgery. *Am. J. Optathal. Vol. 42*: 916-918.
11. BAXTER, T. J.; O'BRIEN, B. Mac.; HENDERSON, P. N. and BENNETT, R. C. (1972): The histopathology of small vessels following microvascular repair. *Brit. J. Surg.*, 59: 617-622.
12. BELLMAN, S.; KOVAMESS, A. and RIETZ, K. A. (1967): Reconstruction of small arteries. Androsov's and Nakayama's apparatuses and microangiography. *Microvascular Surgery. Ed. R.M.P. Donaghy and M. G. Jasargil. Thieme Stuttgart.* 67-75.
13. BLAKEMORE, A. H. and LORD, J. W. (1945): An nonsuture method of blood vessel anastomosis. *J.A.M.A.* 127: 685-690.
14. BORN, G. V. R. and CROSS, M. J. (1967): Effects of inorganic ions and of plasma proteius on the aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate. *J. Physiol. (London)*, 170: 397-400.
15. BUCK, R. C. (1961): Intimal thickening after ligation of arteries. An electron microscopia study. *Circulation Research.* 9: 418-426.
16. BUNCKE, H. J. y SCHULZ, W. P. (1965): Experimental digital amputacion and reimplantation. *Plast. and Reconstr. Surg.*, 36: 62-70.
17. BUNCKE, H. J. and SCHULZ, W. P. (1966): Total ear reimplantation in the rabbit utilising microminature vascular anastomoses. *Brit. J. Plast. Surg.*, 19: 15-22.
18. BUNCKE, H. J.; BUNCKE, C. M. and SCHULZ, W. P. (1966): Immediate Nicoladowi procedure in the Rhesus monkey, or hallux-to-hand transplantation, utilising microminature vascular anastomoses. *Br. J. Plast. Surg.*, 19: 332-337.
19. BUNCKE, H. J. (1967): The suture repair of 1 millimeter vessels. *R.M.P. Donaghy and M. G. Jasargil (Eds). Micro-Vascular Surgery. Stuttgart: Thieme.*
20. BUNCKE, H., MCLEAN, D.; GEORGE, P.; GREECH, B.; CHATER and COMMONS, G. (1973): Thumb replacement great toe transplantation by microvascular anastomosis. *Brit. J. Plast. Surg.*, 26: 194-201.
21. BUNCKE, H. J.; CHATER, M. L. and SZABO, Z. (1975): *The Manual of Microvascular Surgery*. Pearl River, New York. Davis and Geck Co.
22. BUNCKE, H. J. (1976): Free toe-to-hand transfers. *Daniller AI, Strauch B, editor(s): Symposium on Microsurgery St. Louis. The C.V. Mosby C*: 269-276.
23. BUNCKE, H. J.; FURNAS, D. W.; GORDON LEONARD and ACHAVAR, B. M. (1977): Free osteocutaneous flap from a rib to the tibia. *Plast. and Reconstr. Surg.*, 59: 799-805.
24. CAMERON, J. L.; HENDRY, W. S. and PULASKI, E. J. (1966): Common duct anastomosis with a vascular stapler. *Surgery*, 59: 957-961.
25. CARREL, A.: La technique opératoire des anastomoses vasculaires et la transplantation des viscères. *Med. Lyon*, 98: 859-864.
26. CARREL, A. and GUTHRIE, G. C. (1906): Uniterminal and biterminal venous transplantation. *Surg. Gynec. Obstet.*, 2: 266.
27. CARREL, A.; GUTHRIE, C. C. (1906): Complete amputation of the thigh with replantation. *American Journal of the Medical Sciences*, 131: 297-301.
28. CARREL, A. (1908): Results of the transplan-

- tation of blood vessel, organs and limbs. *J. Amer. Med. Ass.*, 51: 1662.
29. CARTON, C. A.; KESSLER, L. A.; SEIDENBERG, B. y HURWITT, E. S. (1960): Experimental studies in the surgery of small blood vessels: IV Nonsuture anastomosis of arteries and veins using flanged ring prosthesis and plastic adhesive. *Surg. Forum*, 11: 238-239.
 30. CARTON, C. A.; KESSLER, L. A.; SEIDENBERG, B. y HURWITT, E. S. (1961): Experimental studies in surgery of small blood vessels: II paring of arteriotomy using a plastic adhesive. *J. Neurosurg.*, 18: 188-194.
 31. CHASE, M. D. and SCHWARTZ, S. I. (1962): Consistent patency of 1,5 millimeter arterial anastomoses. *Surg. Forum*, 13: 220-222.
 32. CH'EN, C. W.; CH'EN, Y. C. and PAO, Y. S. (1963): Salvage of the forearm following complete traumatic amputation: Report of a successful case. *Chinese Medical Journal*, 82: 633-638.
 33. CH'EN, C. W. (1977): *Personal Communication. Citado por O'BRIEN, B. Reimplantation surgery of limbs.* Microvascular Reconstructive Surgery. Ed. Churchill Livingstone. Edinburgh. London and New York. 124.
 34. CH'EN, Y. C.; CH'EN, C.; CH'ING-T'EN, L. and YUEHSE, P. (1966): Some problems concerning small vessel anastomosis in the reattachment of complete traumatic amputations. *Chin. Med. J.*, 85: 79-86.
 35. CHIGNIER, E.; DESSAPT, B.; LOIRE, R.; DESCORTES, J. (1976): Evolution de la poroi des microvaisseaux soumis a des microsutures. *Am. Chir. Thorac. Cardio-Vasc.*, 15: 175-177.
 36. CHOW, J. A.; BILOS, Z. Y.; CHRUNPLAPAPH, B. (1979): Thirty thumb replatations: Indications and results. *Plast. Reconstr. Surg.*, 64: 626-630.
 37. CLARK, J. M. and GLAGOV, S. (1976): Luminar surface of sited arteries by scanning electron microscopy: eliminating configurational and technical artefacts. *Brit. J. Exp. Pathol.*, 57: 129-135.
 38. CLARKSON, P. (1962): On making thumbs. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 29: 325-331.
 39. COBBETT, J. R. (1967): Microvascular surgery. *Surg. Clin. N. Amer.*, 47: 521-542.
 40. COBBETT, J. (1967): Microvascular surgery. *Br. J. Surgery*. Vol. 54: 842.
 41. COBBETT, J. R. (1967): *Dianeeter Changes in Small vessel Anastomoses.* R.M.P. Donaghy and M.G. Jasargil (Eds). Micro-Vascular Surgery. Stuttgart: Tieme.
 42. COBBETT, J. R. (1967): Small vessel anastomosis. A comparison of suture techniques. *Br. J. Plast. Surg.*, 20: 16-20.
 43. COBBETT, J. (1979): *Citado por SERRA, J. M. y CANADEL, J.: Microcirugía Vascolar. Técnicas de Microcirugía.* Ed. EUNSA. Pamplona: 55-83.
 44. COBBETT, J. R. (1969): Free digital transper-report of a case of trmper of a great toe replace an amputated thumb. *J. Bone Jt. Surg.*, 51-B: 677-679.
 45. COLLINS, R. E. and DOUGLAS, F. M. (1964): Small vein anastomosis with and without operative microscope. *Arch. Surg.*, 88: 74-742.
 46. CONNOCK, S. (1958): An aid to surgery a vascular everter. *Nat. Res. Coum. Causad: Mech Eng. Rep. MI-828.*
 47. CONSTANTINIDES, P. and ROBINSON, M. (1969): Ultrastructural injury of arterial endothelium. *Arch. Pathol.*, 88: 99-105.
 48. CROCK, H. C. (1967): *The Blood supply of the Lower. Limb. Bones.* Edinburgh, E.S. Livingstone Ltd.
 49. DANIEL, R. K. and TAYLOR, G. I. (1973): Distant transfer of an island frap by microvascular anastomoses. *Plast. Reconstr. Surg.*, 52: 111-117.
 50. DANIEL, R. K. and TERZIS, J. K. (1977): *Microvascular Surgical Techniques.* Reconstructive Microsurgery, Ed. Little, Brown and Company, Boston. 233-236.
 51. DANIEL, R. K. and TERZIS, J. K. (1977): *Microvascular Surgical Techniques.* Reconstructive Microsurgery, Ed. Little, Brown and Company, Boston. 61-124.
 52. DAVIES, M. J., WOOLF, N. and BRADLEY, J. P.W. (1969): Endothelialisation of experimentally produced mural thrombi in the pig-aorta. *J. Pathol.*, 97: 589-594.
 53. DEBAKEY, M. E. y SIMEONE, F. A. (1946): Battle injuries of the arteries during the Second World war, an analysis of 2.471 cases. *Ann. Surg.* 123: 534-579.
 54. DERMAN, G. H. and SCHENCK, R. R. (1977): *Técnica Microquirúrgica. Fundamentos de laboratorio de Microcirugía.* Clínicas Ortopédicas de Norteamérica. Ed. Médica Panamericana, 13-31.
 55. DESSAPT, B. (1975): *Les transpositions de lambeaux cutanes par microanastomoses des pedicules vasculaires.* Tesis Doctoral, Lyon.
 56. DEYKIN, D. (1974): Emerging concepts of platelet funtion. *N. Engl. J. Med.*, 290: 144-151.
 57. DIDISHEIM, P. (1968): Inhibition by dipyridamole of arterial thrombosis in rats. *Trombosis et Diathesis Haemorrhagica*, 20: 257-266.
 58. DOERR: Citado por HAM, A. W. (92).
 59. DORFLER (1978): Sistemática en Microcirugía Experimental para anastomosis arteriales y venosas. *Rev. Quir. Esp.* Vol. 5, 5: 280-284.
 60. DOUGLAS, D. (1959): Successful replacement of completely avulsed portions of fingers with

- composite grafts. *Plast. Reconstr. Surg.*, 23: 213-225.
61. EDSHAGES, S. (1964): Peripheral nerve suture. *Acta Chir. Scand. (Suplemento)*. 331: 1.
 62. ENGRAV, L. H.; BENJAMIN, C. I.; CRANDALL, H. and PERRY, J. F. (1975): Experimental effects of heparin or magnesium sulfate on the patency of microvascular anastomoses. *Plast. and Reconst. Surg.*, 33: 618-619.
 63. FIORAVANTI, L. (1570): *In tesoro della vita humana*. Appresso gli heredi di M. Sessa, Venetia.
 64. FLANC, C.; KAKKAR, V. V. and CLARKE, M. B. (1968): The detection of venous thrombosis of the legs using 125-I labeled fibrinogen. *Brit. Journal of Surgery*, 55: 742-747.
 65. FLEISCHMAN, A. I.; BIERENBAUM, M. L.; STIER, A. (1976): The effect of aspirin on in vivo platelet function in humans. *Thrombos Res.*, 8: 797-801.
 66. FLOREY, H. W.; GREER, S. T.; POOLE, J. C.; WERTHESSEN, N. T. (1961): The pseudointima lining fabric grafts of the aorta. *Brit. J. Exp. Path.*, 42: 236-246.
 67. FLOREY, H. W.; GREEN, S. J.; KISER, J.; POOLE, J. C. F.; TELANDER, R.; WERTHESSEN, N. T. (1962): The development of the pseudo intima lining fabric grafts of the aorta. *Brit. J. Exp. Path.*, 43: 655-660.
 68. FONKALSRUD, E. W.; SÁNCHEZ, M.; ZERUBAVEL, R.; LASSALETTA, L.; SMEESTERS, C. G. and MAHONEY, A. (1976): Arterial Endothelial changes after ischemia and Perfusion. *Surg. Gynecology and Obstetrics*, 142: 715-721.
 69. FOUCHER, G.; BRAUM, F. M.; MERLE, M. et MICHON, J. (1981): Le transfer du deuxième orteil dans la chirurgie reconstructive des doigts longs. *Rev. de Chir. Orthop.*, 67: 235-240.
 70. FREEMAN, B. S. (1965): Reconstruction of the thumb by toe transfer. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 17: 393-398.
 71. FUJINO, T. and AOYAGI, F. (1975): A method of successive interrupted suturing in microvascular anastomosis. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 55: 240-241.
 72. GERTZ, S. D.; RENNELS, M. L. and NELSON, E. (1975): Endothelial cell ischemie injury. Protective effect of heparin or aspirin assessed by scanning electron microscopy. *Stroke*, 6: 357-360.
 73. GERTZ, S. D.; RENNELS, M. L.; FORBES, M. S.; KAWAMURA, J.; SUNAGA, T. and NELSON, E. (1976): Endothelial cell damage by temporary arterial occlusion with surgical clips. Study of the site by scanning and transmission electron microscopy. *Journal of Neurosurgery*, 45: 514-519.
 74. GHIANI, A. R. and TIBBS, D. J. (1962): Role of Blood-Borne cells in organization of mural thrombi. *Brit. Med. J.*, 1: 1244-1247.
 75. GIBSON, T. (1965): Early free grafting: The restitution of parts completely separated from the body. *Brit. J. Plast. Surg.*, 18: 1-11.
 76. GILBERT, A. (1975): *Third International Symposium of Microsurgery*. East. Grinstead, England.
 77. GOLDWYN, R. M.; LAMB, D. L. and WHITE, W. L. (1963): An experimental study of large island flaps in dogs. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 31: 528-536.
 78. GOMEZ ALONSO, A. (1981): *La enfermedad tromboembólica venosa como riesgo quirúrgico*. Discurso pronunciado para la incorporación en la Real Academia de Medicina de Salamanca.
 79. GONZÁLEZ PEIRONA, E.; ERICKSON, R.; GIMENO, M. A. y MARTÍNEZ-SAHUQUILLO, A. (1980): Nuestra experiencia en las reimplantaciones de miembros en el perro con las técnicas de microcirugía. *Rev. Quir. Esp.*, 7: 71-74.
 80. GRABB, W. C.; BEMENT, S. L. y KREPKE, G. H. (1970): Comparison of methods of peripheral nerve suturing in monkeys. *Plastic Reconstr. Surgery*, 46: 31-38.
 81. GREEN, G. E.; SOM, M. L. and WOLFF, W. I. (1966): Experimental microvascular suture anastomosis. *Circulation (Suppl.)* 33: 1199.
 82. GREEN, G.; STERTZER, S. y RUPPERT, E. (1968): Coronary arterial bypass grafts. *Annals of thoracic. Surgery*, 5: 443-450.
 83. GREEN, G. E. (1970): Microvascular technique coronary artery surgery. *American Heart Journal*, 79: 276-279.
 84. GREGORIUS, F. K. and RAND, R. W. (1975): Scanning Electron Microscopic Observations of Common Carotid Artery Endothelium in the Rat. I. Crater Artifacts. *Surg. Neurol.*, 4: 252-257.
 85. GREGORIUS, F. K. and RAND, R. W. (1975): Scanning Electron Microscopic Observations of Common Carotid Artery Endothelium in the Rat. II. Sutured Arteries. *Surg. Neurol.*, 4: 258-264.
 86. GUTHRIE, G. C. (1912): *Blood vessel surgery and its applications*. Edward Arnold. Londres.
 87. HAFNER, C. E.; FOGARTY, T. J. y CRANLEY, J. J. (1963): Nonsuture anastomosis of small arteries using tissue adhesive. *Surg. Gynec. and Obst.* 116: 417-421.
 88. HALLOWELL (1978): Sistemática en Microcirugía Experimental para anastomosis Arteriales y Venosas. *Rev. Quir. Esp.*, 5: 280-284.
 89. HALSTED: Citado por GONZÁLEZ PEIRONA y cols. (79).
 90. HAM, J. M. and SLACK, W. W. (1968): The ef-

- fect of small doses of heparin on platelet adhesiveness and lipoprotein lipase activity before and after operation. *British Journal of Surgery*, 55: 227-230.
91. HAM, J. M. and SLACK, W. W. (1969): Lipoprotein Lipase activity in patients before and after minor surgical operations clinica. *Clinica Acta*, 25: 417-422.
 92. HAM, A. W. (1975): *Sistema Cardiovascular*. Tratado de Histología. 7.^a Edición. México. Ed. Interamericana, 524-554.
 93. HARASHINA, T. D.; FUJINO, T. D. and WATANABE, S. (1976): The intimal healing of microvascular anastomoses. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 58: 608-613.
 94. HARIU, K.; OHMORI, K. y OHMORI, S. (1974): Free delto-pectoral skin flaps. *Br. J. Plast. Surgery*, 27: 231-239.
 95. HARIU, K.; OHMORI, K. and OHMORI, S. (1974): Hair transplantation with free scalp flaps. *Plast. and Reconstruct. Surg.*, 53: 410-413.
 96. HARIU, K.; OHMORI, K. and TORII, S. (1976): Free gracilis muscle transplantation, with microvascular anastomoses, for the treatment of facial paralysis. *Plast. and Reconstruct. Surg.*, 57: 133-143.
 97. HAYHURST, J. W.; O'BRIEN, B. Mac.; ISHIDA, H.; BAXTER, T. J. (1974): Experimental digital replantation after prolonged cooling. *The Hand*, 6: 134-141.
 98. HAYHURST, J. W. and O'BRIEN, B. M. (1975): An experimental study of microvascular technique, patency rates, and related factors. *Brit. J. Plast. Surg.*, 28: 128-132.
 99. HEALEY, J. E.; CLARK, R. L.; GALLAGHER, H. S.; O'NEILL, P. y SHEENA, K. S. (1962): Nonsuture repair of vessels. *Ann. Surg.*, 155: 817-826.
 100. HEALEY, J. E.; GALLAGHER, H. S.; MOORE, E. R.; CLARK, R. L.; SHEENA, K. S. y McBRIDE, C. M. (1965): Experiences with plastic adhesive in the nonsuture repair of body tissues. *Am. J. Surg.*, 109: 416-423.
 101. HEALEY, J. E. (1967): *The use of liquid plastic adhesives in vascular repairs*. Microvascular Surgery, Ed. R.M.P. Donaghy and M.G. Yasargil, Thieme, Stuttgart, 63-67.
 102. HEIFETZ, M. D. (1969): A new intracranial aneurysm clip. (Technical suggestion). *J. Neurosurg.*, 30: 753.
 103. HERSHMAN, H.; LAFER, D. J. and SHAFAN, G. W. (1966): Successful replantation of an amputated hand. *Ann. Surg.*, 163: 137-139.
 104. HERR, N. and SMITH, J. W. (1966): *Altered microcirculation in arterial walls costed*. Eastman 910 neonomer. Paper read at the Microsurgical Conference, Burlington, Vermont, October.
 105. HÖPFNER, E. (1903): Weber Gefassnaht, Gefassstransplantationen und Replantation von amputierten Extremitäten. *Archiv. fur Klinische Chirurgie*. 70: 417-471.
 106. HORN, J. S. (1964): Reattachment of severed forearm. *Lancet*, 1: 1152-1154.
 107. HORN, J. S. (1969): *The reattachment of severed extremities*. Recent Advances in Orthopaedics. Ed. Apley, A.G.J.A. Churchill, edit., London, 47.
 108. HORTON, L. E.; DEVINE, C. y HAYHURST, J. W. (1977): *Replantation of the penis. An experimental study in dogs*. Microvascular Reconstructive Surgery. O'Brien. Churchill Livingstone. Edimburgh. London. New York. 338.
 109. HUGHES, C. W. (1958): Arterial repair during the Korean War. *Ann. Surg.*, 147: 555-561.
 110. HUNTER, J.: Citado por GONZÁLEZ PEIRONA, E. y cols. (79).
 111. HUNTINGTON, T. W. (1905): Case of Bone Transference. Use of a Segment of Fibula to supply a Defect in the Tibia. *Ann. Surg.*, 41: 249-251.
 112. HURWITT, E. S.; ALTMAN, S.; BOROW, M. y ROSENBLATT, M. (1953): Intraabdominal arterial anastomosis. *Surgery*, 34: 1043-1051.
 113. IKUTA, Y. (1968): Studies on small vessel anastomosis. *Hiroshima J. Med. Sci.*, 17: 385-411.
 114. IKUTA, J.; KUBO, T. and TSUGE, K. (1976): Free muscle transplantation by microsurgical technique to treat severe Volkmann's contracture. *Plast. and Reconstruct. Surg.*, 58: 407-411.
 115. INOKUSHI, K. (1958): A new type of vessel suturing apparatus. *Arch. Surg.*, 77: 954-959.
 116. JACOBSON, J. H.; MILLER, D. B. and SUÁREZ, E. (1960): Microvascular Surgery: A new horizon in coronary artery surgery. *Circulation*, 22: 767-771.
 117. JACOBSON, J. H. y SUÁREZ, E. L. (1960): Microsurgery in the anastomosis of small vessels. *Surg. Forum*, 11: 243-245.
 118. JACOBSON, J. H. y DONAGHY, M. P. (1962): Microsurgery as an aid to middle cerebral arterial endarterectomy. *J. Neurosurg.*, Vol. 19: 108-114.
 119. JACOBSON, J. H.; MOODY, R. D.; KUSSEROW, B. K. et al. (1966): The tissue response to a plastic adhesive used in combination with. Microsurgical technique in reconstruction of small arteries. *Surgery*, 60: 379-385.
 120. JACOBSON, J. H. (1971): *Microsurgery*. Curr Probl. Surg. Feb.
 121. JENKINS, J. D. (1967): Repair of small vessels. *Br. J. Surg.*, 54: 558-560.
 122. JESSONWHY: Citado por GONZÁLEZ PEIRONA y cols. (79).

123. JORGENSEN, L.; HAEREM, J. W. and HOE, N. (1973): Platelet thrombosis and non-traumatic intimal injury in mouse aorta. *Thrombosis et Diathesis Haemorrhagica*, 29: 470-489.
124. JUDET, H.; GILBERT, A. et JUDET, J. (1981): Essai de revascularisation de la tête fémorale dans les nécroses primitives et post-traumatiques. *Rev. de Chir. Orthop.*, 67: 261-266.
125. JURKIEWICZ, M. J. (1965): Microvascular anastomosis to replace damaged or diseased regions of the cervical oesophagus. *Plastic Reconstr. Surgery*, 36: 509-517.
126. KETCHUM, L. D. et al. (1974): Experimental use of Pluronic F68 in microvascular surgery. *Plast. and Reconstr. Surg.*, 53: 288-292.
127. KHODADAD, G. (1970): Histological evaluation of long term microvascular repair and replacement. *Arch. Surg.*, 101: 503-507.
128. KJELDSEN, K. and THOMSEN, H. K. (1975): The effect of hypoxia on the fine structure of the aortic intima in rabbits. *Laboratory Investigation*, 33, 5: 533-543.
129. KLEINERT, H. E.; KASDAN, M. L. (1963): Salvage of devascularized upper extremities, including studies on small vessel anastomoses. *Clinical Orthopaedics*, 29: 29-38.
130. KLEINERT, H. E.; JUHALA, C. A.; TSAI, T. M. and VAN BEEK, A. (1977): *Reimplantación digital: Selección, técnica, resultados. Reimplantación y Microcirugía Reconstructiva. Clínicas Ortopédicas de Norteamérica.* Ed. Médica Panamericana, 88-96.
131. KLETTER, G. and MEYERMANN, R. (1976): *Histological case control of microanastomoses.* Clinical Microneurosurgery, edited by W. T. Koos, F. W. Bock, and R. F. Spelzler. Publishing Sciences Group. Inc. Acton. Mass.
132. KOMATSU, S. y TAMAI, S. (1968): Successful replantation of a completely cut-off thumb. *Plastic. reconstr. Surgery*, 42: 374-377.
133. KURGAN, A.; GERTZ, S. D.; WAYNBERG, R. S.; ELSDOR, A.; JERSKY, J. and NELSON, E. (1980): Effect of magnesium sulfate on platelet deposition in rabbits following temporary arterial occlusion with surgical clips. *Surgery*, 87: 390-396.
134. LAPCHINSKY, A. G. (1960): Recent results of experimental transplantation of preserved. Limbs and Kidneys and possible use of this technique in clinical practice. *Ann. New York. Acad. Sc.* 87: 539-571.
135. LITTLE, J. H.; COOPER, P.; SARWAT, A. and cols. (1973): Factors influencing endothelial injury and vascular thrombosis after perfusion. *J. Surg. Res.*, 14: 221-227.
136. LOBAY, G. W. and MOYSA, G. L. (1981): Primary neurovascular bundle transfer in the management of avulsed thumbs. *J. Hand Surg.*, 6: 31-34.
137. MACKENZIE, D. C.; LOEWENTHAL, T. (1960): Endothelial growth in nylon vascular graft. *Brit. J. Surgery*, 48: 212-217.
138. MAC MILLAN, D. C. and SIM, A. K. (1970): A Comparative Study of platelet aggregation in man and laboratory animals. *Thrombosis et Diathesis Haemorrhagica*, 24: 385-389.
139. MALLINA, R. F. (1963): The technical aspects of the vascular stapler. *Tr. New York. Acad. Sc.* 25: 353-364.
140. MALLINA, R. F.; MILLER, T. R.; COOPER, P. y CARISTIF, S. G. (1962): Surgical stapling. *Scientific-American*, 207 (4): 48-56.
141. MALT, R. y MCKHANN, C. F. (1964): Replantation of severed arms. *J. Am. Med. Ass.*, 189: 716-722.
142. MANAX, W. G.; BLOCH, J. H.; LONGERBEAM, J. K. y LILLEHEI, R. C. (1963): Plastic adhesive as an adjunct in suture anastomosis of small blood vessels. *Surgery*, 54: 663-666.
143. MANI, B. and KOHN, Z. (1962): Experiments on the anastomosis of small vessels. *J. Cardiovasc. Surg. (Torino)*, 3: 195-199.
144. MARTIN, M. (1976): *Vessel Wall-Blood Flow-Thrombolysis. «Blood Vessels».* Edit. by S. Effert and J. D. Meyers-Erkeleenz Springer-Verlag. Berlin. Heidelberg.
145. MAY, J. W. Jr.; DANIEL, R. K. (1978): Great toe-to-hand free-tissue transfer. *Clin. Orthop.*, 133: 140-153.
146. McCULLOUGH, D. W. and FREDRICKSON, J. M. (1973): Neovascularized rib grafts to reconstruct mandibular defects. *Canad. J. Otolaryng.*, 2: 96-100.
147. MEHL, R. L.; PAUL, H. A. and SHORCY, W. D. (1964): Patency of the microcirculation in the traumatically amputated limb a comparison of common perfusates. *Journal of Traumatology*, 4: 495-505.
148. MILWARD, T. and RAYNER, C. R. W. (1976): A Method for studying endothelial regeneration in small vessels. *Plast. and Reconstr. Surgery*, 58: 490-494.
149. MOODY, R. A. (1967): *Some observations on the development of the new microvascular service.* Microvascular Surgery. E.R.M.P. Donaghy and M.G. Jasargil. Thieme. Stuttgart, 19-24.
150. MORELLI, E. (1977): *Estudio actual de la Microcirugía Vascular.* Comunicación personal. Curso teórico-práctico de Microcirugía de Nervios periféricos. Universidad de Navarra.
151. MORRISON, W. A.; O'BRIEN, B.; MAC LEOD, A. M. (1978): Digital replantation and revascularization. A long-term review of one hundred cases. *Hand*, 10: 125-134.
152. MOSELEY, N. S.; CONNELL, P. S. and KRIP-

- PAEHNE, W. W. (1974): Healing of the canine aorta after endarterectomy: a scanning electromicroscopy study. *Ann. Surg.*, 180: 329-335.
153. MOZES, M.; MAN, M.; AGMON, M. and ADAR, R. (1963): Small vessel anastomoses. *Surgery*, 54: 609-611.
154. MURRAY, M.; SCHRODT, G. R. and BERG, H. F. (1966): Role of Smooth Muscle Cells in Healing of injured Arteries. *Arch. Pathol.*, 82: 138-146.
155. MUSTARD, J. F. and PACKHAM, M. A. (1970): Thromboembolism: a manifestation of the response of blood to injury. *Circulation*, 42: 1-21.
156. NAKANO, J.; KOSS, M. C. (1973): Pathophysiologic roles of prostaglandins and the action of aspirin-Like drugs. *South. Med. J.*, 66: 709-723.
157. NAKAYAMA, K.; TAMIYA, T.; YAMAMOTO, K. and AVIMOTO, S. (1962): A simple new apparatus for small vessel anastomoses. *Surgery*, 52: 918-931.
158. NAKAYAMA, K.; YAMAMOTO, K. y TAMIYA, T. (1962): A new simple apparatus for anastomosis of small vessels. Preliminary report. *J. Internat. Coll. Surg.*, 38: 12-26.
159. NAPIER, J. R. (1956): The prehensile movements of the human hand. *J. Bone Joint Surg. (Br.)*, 38: 902-913.
160. NATHAN, P. A. and ROSE, M. C. (1976): An alternative technique for microvascular suture. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 58: 635-637.
161. NAVA, B. E. (1972): Comparación de las técnicas más utilizadas para la anastomosis de pequeños vasos. *Rev. Ortop. Traum.* 16 IB: 389-402.
162. NELSON, E. (1973): *Endothelial ischemia as studied by correlated scanning and transmission electron microscopy and by fluorescent antibody staining*. Shimamoto, T., Numano, F. (eds.): «Arterogenesis II». Excerpta Medica, 66-75.
163. NICOLADON, C.: Citado por GONZÁLEZ PEIRONA y cols. (79).
164. NICOLADON, C. (1900): Daumenplastik und Organischer Ersatz der Fingerspitze. *Archiv. for Klinische Chirurgie*, 61: 606-614.
165. NOMOTO, H.; BUNCKE, H. J. and CHATER, N. L. (1974): Improved patency rates in microvascular surgery when using magnesium sulfate and a silicone rubber vascular cuff. *Plast. Reconstr. Surg.*, 54: 157-160.
166. NOMURA, Y. (1970): The ultrastructure of the pseudointima living sythetic arterial grafts in the canine aorta with special reference to the origin of the endothelial cell. *J. Cardiovasc. Surg.*, 11: 288-291.
167. NYLEN, C. O. (1954): The Microscope in surgical surgery, its first use and later development. *Acta otolaryngology Supplement*, 116: 226-240.
168. O'BRIEN, B. M.; HENDERSON, P. N.; BENNET, R. C. and CROCK, G. W. (1970): Microvascular surgical technique. *Med. J. Aust.*, 1: 722-725.
169. O'BRIEN, B. M.; HENDERSON, P. M.; BAXTER, T. J. and MILLER, G. G. H. (1971): *Microsurgical repair of small vessels; for television demonstration*, Reprinted from 5th World. Congress of Plastic and Reconstructive Surgery, Butterworths.
170. O'BRIEN, B. and SHANMUGAN, M. (1973): Experimental transfer of composite free flaps with microvascular anastomoses. *Australian and New Zealand Journal of Surgery*, 43: 285-288.
171. O'BRIEN, B. M.; MACLEOD, A. M.; MILLER, G. D. H.; NEWING, R. K.; HAYHURST, J. W. and MORRISON, W. A. (1973): Clinical replantation of digits. *Plastic and Reconstructive Surg.*, 52: 490-502.
172. O'BRIEN, J. R.; TULEUSKI, V. G.; ETHERINGTON, M.; MADGWICK, T.; ALKAERSIG, N. and FLETCHER, A. (1974): Platelets function studies before and after operation and the effect of postoperative thrombosis. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 83: 342-354.
173. O'BRIEN, B.; MACLEOD, A. M.; HAYHURST, J. W.; MORRISON, W. A. and ISHIDA, H. (1974): Major replantation surgery in the upper limb. *Hand*, 6: 217-228.
174. O'BRIEN, B.; MACLEOD, A.; SYKES, P. y DONABOE, S. (1975): Hallux to hand transfer. *Hand*, 7: 128-133.
175. O'BRIEN, B. (1977): *Pathophysiology of Microvascular Occlusions*. Microvascular Reconstructive Surgery. Ed. Churchill. Livingstone. Edinburgh. London and New York, 40-49.
176. O'BRIEN, B. (1977): *Basic Microvascular Technique*. Microvascular Reconstructive Surgery. Ed. Churchill. Livingstone. Edinburgh. London and New York, 50-78.
177. O'BRIEN, B. (1977): *Histopathology of Microvascular Repaire*. Microvascular Reconstructive Surgery. Ed. Churchill. Livingstone. Edinburgh. London and New York, 79-101.
178. O'BRIEN, B. (1977): *Replantation Surgery of Limbs*. Microvascular Reconstructive Surgery. Ed. Churchill. Livingstone. Edinburgh. London and New York, 124-150.
179. O'BRIEN, B. (1977): *One stage toe-to-hand surgery*. Microvascular Reconstructive Surgery. Churchill. Livingstone. London, 182-204.
180. O'BRIEN, B. (1977): *Microvascular Free Flap and omental transfer*. Microvascular

- Reconstructive Surgery. Ed. Churchill. Livingstone. Edinburgh. London and New York, 205-237.
181. O'BRIEN, B. (1977): *Microvascular Free Bone and Joint Transfer*. Microvascular Reconstructive Surgery. Churchill. Livingstone. Edinburgh. London and New York, 267-289.
 182. O'BRIEN, B. (1977): *Microvascular Free Muscle Transfer*. Microvascular Reconstructive Surgery. Ed. Churchill. Livingstone. Edinburgh. London and New York, 290-305.
 183. O'BRIEN, B. Mc.; MACLEOD, A. M. and MORRISON, N. A. (1977): *Traslado de Colgajos libres microvasculares*. Clínicas Ortopédicas de Norteamérica. Reimplantación y microcirugía reconstructiva. Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires, 126-143.
 184. O'BRIEN, B.; BRENNER, M. D.; MACLEOD, A. M. (1978): Simultaneous double toe transfer for severely disabled hands. *Hand*, 10: 232-240.
 185. O'BRIEN, B. M.; MACLEOD, A. M.; SYRES, P. J. y cols. (1978): Microvascular second toe transfer for digital reconstruction. *J. Hand Surg.*, 3: 123-133.
 186. O'CONNELL, TH. X.; SANCHEZ, M.; MOWBRAY, J. F.; FONKALSRUD, E. W. (1974): Effects on Arterial Intima of Saline Infusions. *Journal of Surgery Research*, 16: 197-203.
 187. OHMORI, K. y HARIU, K. (1975): Transplantation of a toe an amputated finger. *Hand*, 7: 134-138.
- OHTSUKA, H.; FUJITA, K. and SHIOYA, N. (1976): Replantations and free flap transfers by microvascular surgery. *Plastic Reconstructive Surgery*, 58: 708-712.
189. ORTIZ, H.; MARTÍNEZ CARO, D. y VOLTAS, J. (1970): Técnica quirúrgica del trasplante cardíaco heterotópico en la rata. *Cirugía Española*, Vol. XXIV: 175-182.
 190. OSGOOD, C. P.; DUJOVNY, M.; FAILLE, R.; BARRIONUEVO, P.; ZEA LONGA, E. and MATA, R. (1976): Early Scanning Electron microscope evaluation of Microvascular maneuvers. *Angiology*, 27: 96-105.
 191. OSTRUP, L. y FREDRICKSON, J. (1974): Distant transfer of a free, living bone graft by microvascular anastomoses. *Plastic Reconstruct. Surgery*, 54: 274-285.
 192. PARE, A: Citado por DANIEL, R. K. (50).
 193. PATERSON, P. J. y WOOD, E. C. (1974): The use of microsurgery in the re-anastomosis of the rabbit fallopian tube. *Fert. Steril*, 25: 757-761.
 194. PAYR, E. (1901): Weitere mitteilungen über Berwendung des Magnesiums bei der Naht der Blutgefasse. *Langenbecks Arch. Klin. Chir.*, 64: 722-726.
 195. PAYR, E. (1904): Zur Frage der circulären Vereinigung von Blutgefässen mit resorbierbaren Prothesen. *Archiv. Fñ Klinische Chirurgie*, 72: 1-32.
 196. PERLOFF, L. J.; ANDERSON, R. T. and BARKER, C. F. (1975): Endothelial repopulation in venous allografts. *J. Surg. Res.*, 18: 131-136.
 197. PERRITT, R. A. (1950): Recent advantages in corneal surgery. *Am. Acad. Ophthal-oto lar.*, course N.º 280.
 198. PHELAN, J. T.; JOUNG, W. P. y GALE, G. W. (1958): The effect of suture material on small artery anastomosis. *Surg. Gynec. Obst.*, 107: 79-83.
 199. POOLE, J. C. F.; SANDERS, A. G. and FLOREY, H. W. (1958): The regeneration of aortic endothelium. *J. Pathol. Bacteriol.*, 75: 133-143.
 200. QUE, H. J. y SIGEL, B. (1965): Electrocautery closure of linear incisions in veins. *Surgery*, 58: 678-682.
 201. REICHERT, F. L. (1931): The importance of circulatory balance in the survival of replanted limbs. *Bulletin of joh Hopkins Hospital*, 49: 86-93.
 202. SALMON, J. H. (1963): Repair of small arteries. *J. Cardiovasc. Surg. (Torino)*, 4: 52-54.
 203. SALMON, P. A. y ASSIMACOPOULOS, C. A. (1964): A pneumatic needle holder suitable for microsurgical technique. *Surgery*, 55: 446-450.
 204. SALMON, P. A. and ASSIMACOPOULOS, C. A. (1964): Microsurgery. *Minn. Med.*, 47: 679-686.
 205. SANZ GREGORIO, P.; QUINTANA, A.; GRACIA, J. y RODRÍGUEZ BARROSO, J. (1980): El reimplante del dedo pulgar con técnicas microquirúrgicas. *Rev. Esp. de Cir. de la mano*, 19: 55-66.
 206. SCHENCK, R. R. and DERMAN, G. H. (1977): *Molde intraluminal de Silastic para reparar vasos pequeños*. Clínicas Ortopédicas de Norteamérica. Reimplantación y Microcirugía reconstructiva. Ed. Médica Panamericana, 47-52.
 207. SCHENCK, R. R. (1977): *Trasplante libre de músculo y y piel total mediante anastomosis microvasculares*. Clínicas Ortopédicas de Norteamérica. Reimplantación y Microcirugía reconstructiva. Ed. Médica Panamericana, 144-152.
 208. SEIDENBERG, B. y HURWITT, E. S. (1963): Non-suture techniques for vascular anastomosis. *Dis. Chest.*, 44: 529-532.
 209. SERAFIN, D.; VILLARREAL-RÍOS, A. and GEORGIADIS, N. G. (1977): A Rib-Contai-

- ning Free Flap to Reconstruct Mandibular Defects. *Brit. J. Plast. Surg.*, 30: 263-266.
210. SERRA, J. M. (1978): *Reimplantación de miembros*. Tesis Doctoral. Universidad de Navarra.
211. SERRA, J. M. y CAÑADEL, J. (1979): *Microcirugía vascular*. Técnicas de Microcirugía. Ed. Eunsa. Pamplona, 55-83.
212. SERVANT, J. M.; IKUTA, Y. and HARADA, Y. (1976): Electron Microscope study of microvascular Anastomosis. *Plast. and Reconstructive Surgery*, 57: 329-334.
213. SHARNOFF, J. G.; BAGG, J. F.; BREEN, S. R.; ROGLIANO, A. G.; WALSH, A. R. and SCARDINO, V. (1960): The possible indication postoperative thromboembolism by platelet counts and blood coagulation studies in the patient undergoing extensive surgery. *Surgery Gynecology and Obstetrics*, 111: 469-474.
214. SHUMAKER, H. B. and LOWENBERG, R. I. (1948): Comparison of relativity of various method of end to end arterial suture. *Surgery*, 24: 79-89.
215. SIGEL, B. y ACEVEDO, F. J. (1962): Vein anastomosis by electrocoaptive union. *Surg. Forum*, 13: 233-235.
216. SIGEL, B. y ACEVEDO, F. J. (1963): Electrocoaptive union of blood vessels: A preliminary experimental study. *Surg. Res.*, 3: 90-96.
217. SIGEL, B. y DUNN, M. R. (1965): The mechanism of blood vessel closure by high frequency electrocoagulation. *Surg. Gynec. Obst.* 121: 823-831.
218. SIGEL, B.; HATKE, F. L. y DUNN, M. R. (1967): *Electrocoaptation of small blood vessels*. Microvascular Surgery. Ed. R.M.P. Donaghy and M.G. Jasargil. Thieme. Stuttgart, 53-57.
219. SIXTA PEOPLE'S HOSPITAL SHANGAI (1967): Reattachment of traumatic amputations. A summing up of experience. *China's Med.*, 5: 392-402.
220. SMITH, J. W. (1964): Microsurgery of peripheral nerves. *Plastic reconst. Surgery*, 33: 317-329.
221. SMITH, P. (1976): A comparasion of the orientation of Elastin Fibers in the Elastic Laminae of the Pulmonary Trunk and Aorta of Rabbits Using the scanning Electron Microscope. *Laboratory Investigation*, 35:6: 525-529.
222. SMITH y cols.: Citado por HAM, A. W. (92).
223. SPAET, T. (1964): The platelet in hemostasis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 115: 31-42.
224. SPAET, I. H. and GAYNOR, E. (1970): Vascular endothelial damage and thrombosis. *Advances in Cardiology*, 4: 47-66.
225. SPAET, T. H.; GAYNOR, E. and STEMERMAN, M. B. (1974): Thrombosis, atherosclerosis and endothelium. *American Heart Journal*, 87: 661-668.
226. STEMERMAN, M. B. and SPAET, T. H. (1972): The subendothelium and thrombogenesis. *Bulletin of the New York Academy of Medicine*, 48: 289-301.
227. STIVALA, E. J. (1973): Chemistry and pharmacology of heparina. *J. Pharm. Sci.*, 62: 517-544.
228. STRAUCH, B. and MURRAY, D. E. (1967): Transfer of composite graft with immediate suture anastomosis of its vascular pedicle measuring less than 1 mm in external diameter using microsurgical techniques. *Plastic and Reconstructive Surg.*, 49: 325-329.
229. STRAUCH, B.; BLOOMBERG, A. E. and LEWIN, M. L. (1971): An experimental approach to mandibular replacement: island vascular composite rib grafts. *Brit. J. Plast. Surg.*, 24: 334-341.
230. STRULLY, K. J. and JAHR, W. Z. (1967): *Laser Theory and bromedical Application*. R.M.P. Donaghy and M.G. Yasargil (Eds.). Micro-Vascular Surgery. Stuttgart. Thieme, 130-134.
231. STRULLY, K. J. and YAHR, W. Z. (1967): *The Effect of Laser on Blood Vessel Wall: A method of Nonocclusive Vascular Anastomosis*. R.M.P. Donaghy and M.G. Yasargil (Eds.). Micro-Vascular Surgery. Stuttgart. Thieme, 135-138.
232. STUMP, M. M.; JORDAN, G. L. Jr.; De BAKKEY, M. E.; HALPERT, B. (1962): The endothelial living of hemografts and dacron protheses in the canine aorta. *Am. J. Path.*, 40: 487-491.
233. SWARTZ, W. M.; BRINK, R. R. and BUNCKE, H. J. (1976): Prevention of thrombosis in arterial and venous microanastomoses by using topical agents. *Plastic. Reconstructive Surgery*, 58: 478-481.
234. TAMAI, S.: Citado por COBBETT, J. R. (39).
235. TAMAI, S.; KOMATSU, S.; SAKAMOTO, H.; SANO, S.; SASAUGHI, N.; HARI, Y.; TATSUMI, Y. and OKUDA, H. (1970): Free muscle transplants in dogs with microsurgical neurovascular anastomosis. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 46: 219-225.
236. TAMAI, S.: Citado por DANIEL, R. K. y col. (51).
237. TAYLOR, G. I.; MILLER, G. D. H. and HAM, F. J. (1975): The Free Vascularized Bone Graft. A clinical Extension of Microvascular Techniques. *Plast. and Reconstr. Surg.*, 55: 533-544.
238. TAYLOR, G. I. (1977): *Traslado Microvascular de hueso libre*. Clínicas Ortopédicas de Norteamérica. Reimplantaciones y Microcirugía reconstructiva. Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires, 201-223.

239. TAYLOR, G. I. (1977): *Free Bone Transfer. Reconstructive Microsurgery*. Edited by R.K. Little. Brown, Boston, 275-280.
240. THAL, A.; PERRY, J. F.; MILLER, F. A. y WANGENSTEEN, O. H. (1956): Direct suture anastomosis of the coronary arteries in the dog. *Surgery*, 40: 1023-1029.
241. THURSTON, J. B.; BUNCKE, H. J.; CHATER, N. L. and WEINSTEIN, Ph. R. (1976): A scanning electron Microscopy study of microarterial damage and repair. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 57: 197-203.
242. TISCORNIA: Citado por SERRA, J. M. y cols. (211).
243. TSAI, T. M. (1979): Second and third toe transplantation to a transmetacarpal amputated hand. *Ann. Acad. Med. Singopere*, 8: 413-419.
244. TSAI, T. M.; JUPITER, J. B.; WOLFF, Th. W. and ATASOY, E. (1981): Reconstruction of severe transmetacarpal mutilating hand injuries by combined second and third toe transfer. *J. Hand Surg.*, 6: 319-328.
245. TSAO, C. (1968): Myointimal cells as a possible source of replacement for endothelial cells in the rabbit. *Circulation Res.*, 23: 671-682.
246. TSAO, C. H. and GLAGOV, S. (1970): Basal endothelial attachment. *Lab. Invest.* 23: 510-516.
247. TSAO, C. H. (1970): Graded endothelial injury of the rabbit aorta. With special reference to platelet deposition. *Arch. Pathol.* 90: 222-227.
248. VANE, J. R. and MONCADA, S. (1980): *Prostacyclin*. «Blood cells and vessel. Walls Functional interaction». Ciba Fund. Symp. 71. (New Series). J. L. Gowans Excerpta Medica. Amsterdam.
249. VILA, R.; DEL CACHO, C.; GUINOT, A. y GONZÁLEZ, H. T. (1980): Reconstrucción del pulgar por reimplantación o por trasplante de un dedo del pie. *Rev. Ortop. Traum.*, 24:4: 553-560.
250. VIRCHOW, R. L. K. (1946): *Weitere Untersuchungen Veber die Verstopfung der Lungenarterie u. ihre Folgen*. Beitrage zur Experimentale Pathologie und Physiologie (Berlin), 2: 1-226.
251. VIRCHOW, R. L. K. (1907): *In Briefe and seine Eltern, 1839 bis 1864*. Hrsg. von Marie Rabl. 2 Angl. Leipzig. Engelmann, 244.
252. VOGELFANGER, I. J. and BEATTIE, W. G. (1958): A Concept of automation in vascular surgery: A preliminary report on a mechanical instrument for arterial anastomosis. *Canad. J. Surg.*, 1: 262-265.
253. WANG, S. H.; YOUNG, K. F. and WEI, J. N. (1981): Replantation of severed limbs. Clinical analysis of 91 cases. *J. Hand Surg.* 6: 311-318.
254. WEILAND, A. J.; DANIEL, R. K. and RILES, E. H. (1977): Application of the Free Vascularized Bone Graft in the Treatment of Malignant or Aggressive Bone Tumors. *Johns Hopkins Med. J.*, 140: 85-96.
255. WEILAND, A. J.; BALTIMORE, MARYLAND and DANIEL, R. K. (1979): Microvascular Anastomoses for Bone Grafts in the Treatment of Massine Defects in Bone. *Journal of Bone and Joint Surgery*, 61-A: 98-104.
256. WEISS, H. J. (1976): Antiplatelet drugs-a new pharmacologic approach to the prevention of thrombosis. *Am. Heart. J.*, 92: 86-102.
257. WEISSBERG, D. and GOETZ, R. H. (1964): Necrosis of arterial wall following application of methyl-2-Cyanoacry late. *Surg. Gynec. Obst.*, 119: 1248-1252.
258. WEISSBERG, D.; SCHWARTZ, P. y GOETZ, R. H. (1966): Nou-suture end-to-side anastomoses of small blood vessels. *Surg. Gynec. Obst.*, 123: 341-346.
259. WESSTER (1976): *Reimplantaciones*. Comunicación personal. 1.º Curso de Cirugía de la mano. Vitoria.
260. YAMADA, Y. (1969): Studies on lymphatic-venous anastomosis in lymphoadema. *Nagoya. J. Med. Sc.*, 32: 1-21.
261. YASARGIL, M. G. (1969): *Microsurgery applied to neuro neurosurgery*. Thieme, Stuttgart, 51.
262. YGGE, J. (1970): Changes in blood coagulation and fibrinolysis during the postoperative period. *American Journal of Surgery*, 119: 225-232.
263. YOUNG, N. K.; KINMONTH, J. B.; TAYLOR, G. W. (1963): The endothelial living of vascular grafts. *Surg. Gynec. Obstet.*, 117: 305-310.