

Zeitschrift: Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire
ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires

Herausgeber: Gesellschaft Schweizer Tierärztinnen und Tierärzte

Band: 121 (1979)

Artikel: Osservazioni in microscopia ottica ed elettronica a scansione di valvole semilunari aortiche porcine

Autor: Galloni, M. / Ceccarelli, V.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-593418>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 14.05.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Università degli Studi di Torino
 Istituto di Patologia generale ed Anatomia patologica Veterinaria e SORIN Biomedica
 Reparto Chirurgia Sperimentale Saluggia (Vercelli)
 (Direttore: Prof. F. Guarda)

Osservazioni in microscopia ottica ed elettronica a scansione di valvole semilunari aortiche porcine

di M. Galloni e V. Ceccarelli

Dal settembre 1965, quando *Binet* e *Carpentier* effettuarono con successo il primo impianto valvolare cardiaco con una protesi di tipo xenograft (*Binet* et al., 1967; *Binet* et al., 1968; *Carpentier*, 1970), l'impiego di tali protesi biologiche è andato aumentando, dati i vantaggi che esse presentano rispetto a quelle attuali di tipo meccanico.

Infatti le protesi biologiche, oltre a permettere al sangue un flusso centrale, in quanto ripetono anatomicamente la valvola semilunare, non comportano la necessità di mantenere il paziente sotto stretto controllo anticoagulante.

I tessuti adoperati per la realizzazione di queste valvole sono diversi e possono essere sia di origine umana che animale.

Per quelli di origine umana (*Ross*, 1962; *Edwards*, 1971; *Puig* et al., 1972) vengono usati: valvole aortiche (*Wheeler* et al., 1972), pericardio (*Frater* et al., 1965; *Edwards*, 1971), fascia lata (*Senning*, 1967; *Ionescu* et al., 1972 A; *Ross* et al., 1973) e dura madre (*Ross*, 1962; *Nakiri* et al., 1975). Di questi i primi due vengono prelevati dallo stesso paziente, mentre la dura madre è ricavata da cadaveri e conservata in glicerina pura (*Nakiri* et al., 1975).

Per quelli di origine animale (*Binet* et al., 1965; *Ionescu* et al., 1972 B), oltre al pericardio bovino (*Ionescu* et al., 1977), si usano normalmente le valvole aortiche di maiale che, prelevate immediatamente dopo la macellazione, vengono opportunamente trattate con glutaraldeide e soluzioni tampone.

La glutaraldeide (*Binet* et al., 1965) sembra essere un buon conservativo perchè abolisce il potenziale antigenico del tessuto e riduce i legami stabili fra le catene proteiche delle fibre collagene ed elastiche mantenendo le caratteristiche di robustezza e atrombogenicità del tessuto (*Carpentier* et al., 1969). Nonostante i buoni risultati che si ottengono fissando i tessuti con glutaraldeide, vi sono ancora dei problemi che sfuggono alla nostra indagine e che determinano delle defaillances nelle valvole ormai impiantate. Infatti tali protesi causano a volte degli insuccessi dovuti a fenomeni di tipo reattivo che si manifestano a livello valvolare coinvolgendo in maniera invasiva il tessuto dei leaflets. La spiegazione di alcuni di questi fenomeni (quali calcificazioni, rotture, formazione sulle semilune di un nuovo endotelio) o non è ancora stata data o si basa su ipotesi che comprendono sia stati infiammatori conseguenti ad infezioni dei pazienti, sia processi degenerativi legati ad un errato trattamento di sterilizzazione e fissazione della valvola nella fase di prelievo e montaggio (*Barrat-Boyes*, 1964; *Barrat-Boyes* et al., 1969 A e B).

In particolare *Wheeler et al.* (1972) fanno rilevare che tutte le protesi ricavate da valvole semilunari umane, da loro osservate, si presentavano prive di endotelio. Inoltre descrivono la formazione di depositi superficiali di fibrina con cellule ematiche e, negli impianti superiori a quattro mesi, perdite di materiale fra i fasci collageni interni, sostituito da una rete di fibrina che racchiude macrofagi.

Materiali e metodi

Da 11 suini di razza Landrace di circa un anno di età, regolarmente macellati e giudicati sani, sono state prelevate dopo la macellazione le valvole semilunari aortiche che sono state fissate immediatamente post-mortem in soluzione all'1% di glutaraldeide in tampone fosfato 0,01 M, pH 7,4. Da ognuno dei tre lembi sono state quindi tagliate, parallelamente tra loro, delle strisce di tessuto che sono state utilizzate per la microscopia ottica e per la microscopia elettronica a scansione (SEM).

Per la prima tecnica si è proceduto ad una normale inclusione in paraffina ed alla esecuzione di sezioni colorate con varie metodiche. Per il SEM si è effettuata una post-fissazione in soluzione di OsO_4 all'1% in tampone fosfato 0,01 M, pH 7,4, che è stata fatta seguire dal passaggio in una scala ascendente di alcool ed in acetato di amile con successiva disidratazione con CO_2 liquida in un critical point drier. Al termine di questi passaggi i campioni hanno subito una metallizzazione con oro.

Osservazioni

In microscopia ottica abbiamo osservato le caratteristiche degli strati connettivali che formano la struttura delle semilune, notando in particolare come la lamina media presenti spesso delle zone in cui le fibre collagene ed elastiche sono meno strettamente addossate, lasciando il posto ad un connettivo più lasso che in taluni casi assume un aspetto edematoso (Fig. 1). Anche a carico della lamina connettivale parietale, nel suo strato più prossimo all'endotelio della faccia parietale od aortica, si sono potute apprezzare delle piccole aree caratterizzate da cellule vescicolose separate da fibre collagene ed elastiche piuttosto disaggregate. Tali zone possono anche determinare piccoli rilevamenti sulla superficie della semiluna (Fig. 2).

Sui preparati osservati al SEM si sono evidenziati taluni aspetti sia della superficie libera sia del piano di sezione rivelato dal taglio dei lembi valvolari. Su entrambe le facce, assiale e parietale, è possibile notare l'estendersi di un ininterrotto monostrato endoteliale, a superficie ondulata in quanto segue l'andamento del sottostante connettivo, che nei preparati è caratterizzato da una retrazione delle fibre ed una conseguente fitta pieghettatura (Fig. 3).

A maggiore ingrandimento le cellule endoteliali mostrano una superficie relativamente liscia ma con piccole estroflessioni (microappendages) e ripiegature. Sempre chiaramente individuabile la zona del nucleo tondeggianti è rilevato (Fig. 4). Caratteristiche simili sono state descritte da *Sharpie et al.* (1978) che, nelle valvole atrio-ventricolari del cane, hanno osservato la presenza di espansioni plasmalemali di varia forma.

La superficie endoteliale ha rivelato anche piccole aree con soluzioni di continuo, in particolare sulla faccia parietale. In questi casi si sono osservate zone di erosione tondeggianti (Fig. 5) oppure si è notata la presenza di trabecole e filamenti, forse sovrapposti allo strato endoteliale, che inducono un aspetto disomogeneo in luogo della tipica superficie piuttosto regolare e liscia (Fig. 6).

In talune zone della semiluna la superficie appare solcata da pieghe di dimensioni maggiori di quelle già descritte e costantemente presenti. Abbiamo rinvenuto questi rilievi soprattutto presso il margine aderente all'ostio arterioso per cui possiamo ipotizzare che essi siano la conseguenza della notevole attività meccanica cui è sottoposta tale area (Fig. 7).

Si sono potute ricavare alcune informazioni sulla struttura interna dei lembi valvolari semilunari mediante l'osservazione di talune superfici di taglio. Si è così evidenziata la presenza di robusti fasci di fibre piuttosto lisce che si incrociano formando una fitta rete nelle cui maglie è possibile scorgere dei filamenti più sottili ed ondulati. Nelle figure 8–9 possiamo vedere simili esempi in una area interna prossima alla superficie assiale, in cui un confronto con le osservazioni in microscopia ottica ci può far ipotizzare una interpretazione delle strutture filamentose più grandi e lisce come fibre collagene e di quelle più fini come fibre elastiche.

Clark et al. (1974) nel loro lavoro sulle valvole aortiche umane riportano uno schema della disposizione dei vari piani di fibre connettivali: sotto l'endotelio della faccia parietale si trovano due strati di fasci collageni paralleli alla parete dell'aorta, di calibro decrescente verso l'interno della semiluna, al di sotto e perpendicolarmente ad essi vi è uno strato in cui compaiono anche fibre elastiche che si trovano, con lo stesso orientamento, a contatto dell'endotelio assiale. Fra i due piani di fibre elastiche vi è ancora un sottile strato di fini elementi collageni ad andamento concentrico rispetto all'ostio aortico. Gli stessi AA., esaminando campioni di semilune fissate a pressione fisiologica, hanno potuto dimostrare una maggiore rugosità della

Fig. 1 Margine libero di semiluna valvolare aortica di suino; la lamina media ha un aspetto particolarmente lasso. (E.E., piccolo ingrand.)

Fig. 2 Faccia parietale di una semiluna: piccola area sottoendoteliale di connettivo rigonfiato. (E.E., medio ingrand.)

Fig. 3 Endotelio della faccia parietale di una semiluna; si noti l'aspetto liscio ed ondulato. Tali onde hanno un periodo medio di 8μ . (SEM 920 $\times$)

Fig. 4 Cellule endoteliali sulla faccia assiale: la loro superficie mostra l'evidente rilievo corrispondente al nucleo che misura mediamente $5 \times 8 \mu$ (SEM 2100 $\times$)

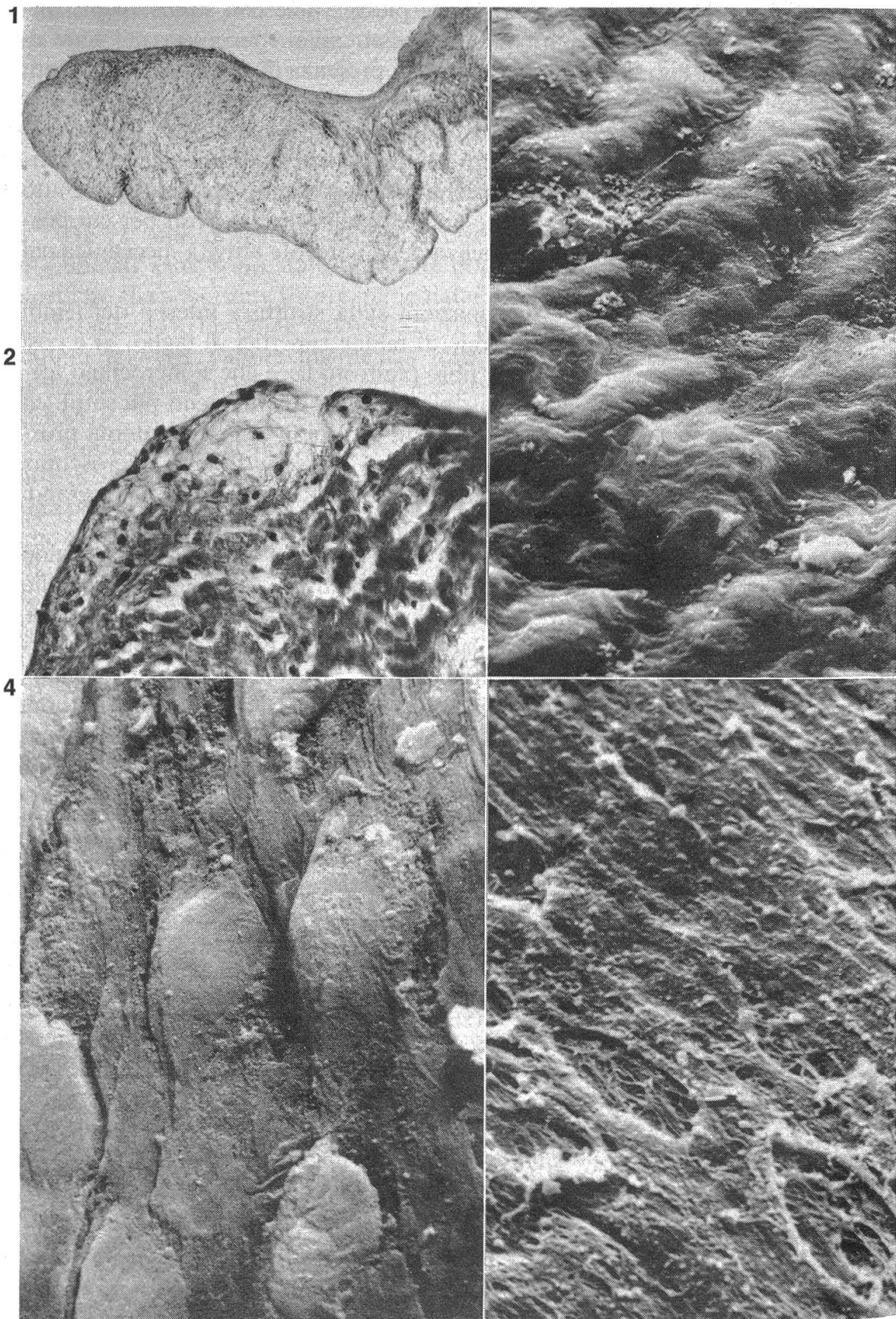
Fig. 5 Endotelio della faccia parietale: aree tondeggianti di soluzione di continuo del diametro medio di 7μ . (SEM 2000 $\times$)

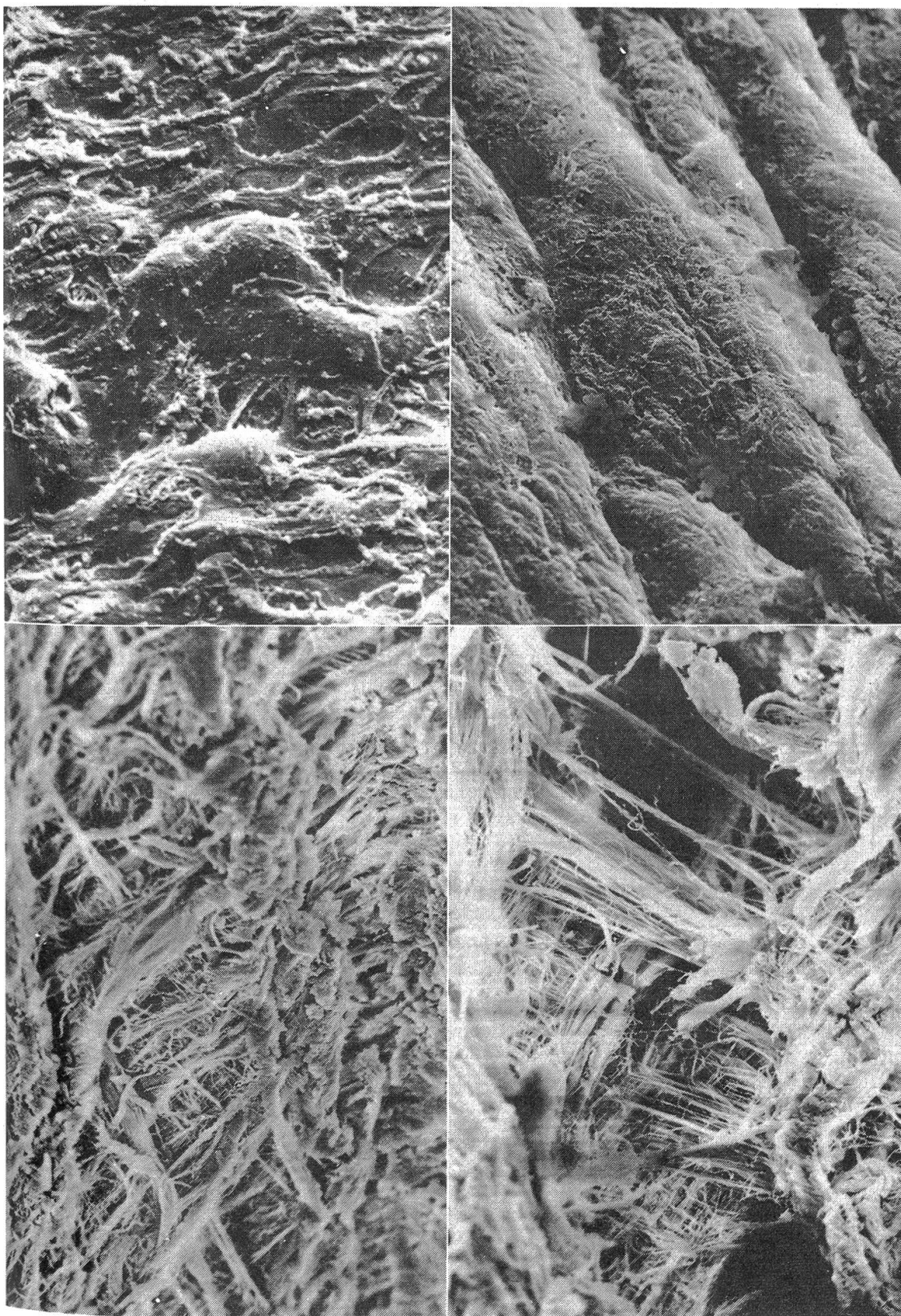
Fig. 6 Endotelio della faccia parietale: zona di superficie irregolare, percorsa da rilievi e strutture filamentose. (SEM 4200 $\times$)

Fig. 7 Faccia parietale: la superficie della semiluna è solcata, ampie pieghe larghe circa 30μ , l'endotelio appare integro. (SEM 680 $\times$)

Fig. 8 Superficie di taglio prossima alla faccia assiale, si notano fasci di fibre connettivali di varia grandezza: le maggiori hanno un diametro medio di circa 2μ mentre le più piccole hanno un diametro di circa $0,2 \mu$. (SEM 644 $\times$)

Fig. 9 Superficie di taglio come la precedente, in cui si evidenziano le varie direzioni delle fibre, alcune delle quali sono piuttosto lisce mentre altre, di calibro minore, hanno un andamento più contorto. (SEM 1056 $\times$)





superficie parietale, rispetto a quella assiale, non causata da artefatti di preparazione.

Osservazioni sulla struttura delle fibre elastiche si trovano anche in un recente lavoro di *Hart et al.* (1978) sull'aorta del maiale.

Conclusioni

Questa nostra ricerca preliminare, condotta su valvole aortiche di maiale, è volta a fornirci dei dati di base per condurre ulteriori indagini. Queste prevedono uno studio approfondito sia dell'anatomia della valvola aortica porcina sia dei mutamenti che questa struttura subisce durante tutte le fasi di fissazione e di montaggio necessarie per il suo utilizzo come protesi valvolare.

Questo perchè pensiamo che vi possa essere correlazione fra alcune lesioni riscontrate su protesi impiantate nell'uomo e caratteristiche istologiche dei tessuti che potrebbero essere associate a fenomeni di età, razza, alimentazione dell'animale donatore, o ad inconvenienti avvenuti proprio durante la preparazione. Infatti, ad esempio, è possibile notare in taluni preparati dei punti con rarefazioni endoteliali che potrebbero rappresentare un «locus minoris resistentiae» ed essere dei momenti di innesco di eventuali processi degenerativi. È per poter verificare questa ipotesi che ci proponiamo di condurre indagini macro- e microscopiche su un largo numero di valvole suine apparentemente normali, sia prima che dopo i vari processi di lavorazione dei tessuti medesimi.

In conclusione vorremmo accertare se alcune defaillances, tipiche delle protesi valvolari di tipo biologico, sono riconducibili ad alterazioni sia dovuto alla fissazione che a processi già in atto nell'animale al momento della macellazione.

Per l'esecuzione di questo lavoro si sono utilizzate le attrezzature tecniche del Centro di Microscopia Elettronica dell'Università degli Studi di Torino, Viale Mattioli 25.

Riassunto

Gli AA. partendo dall'ipotesi che alcune defaillances riscontrate in protesi cardio-vascolari biologiche dopo impianto, possano essere riconducibili ad alterazioni iniziali del tessuto animale, presentano delle immagini in microscopia ottica ed elettronica a scansione di valvole semilunari aortiche porcine macroscopicamente normali.

Zusammenfassung

Es besteht die Möglichkeit, dass ein Teil der Versager bei der chirurgischen Implantation von biologischen Ersatzklappen-Präparaten auf initiale Schädigungen des tierischen Materials zurückzuführen sind. Als Vorarbeit zu weiteren Studien haben die Autoren lichtmikroskopische und raster-elektronenmikroskopische Untersuchungen an makroskopisch normalen Aorten-Semilunarklappen von Schweinen durchgeführt.

Résumé

Il est possible qu'une partie des échecs lors de l'implantation chirurgicale de valvules semilunaires biologiques de l'aorte soient dus à des lésions initiales du matériel animal. A l'aide du microscope optique et du microscope électronique à balayage les auteurs ont effectué des essais sur des valvules semilunaires de porcs macroscopiquement normales en guise de travaux préliminaires à des études ultérieures.

Summary

There is a possibility that some of the failures in surgical transplantation of biological substitutes of heart valves may be traced back to initial damage to the animal material. In preparation for further research, the authors have been carrying out light-microscopic and scanning electron-microscopic tests on macroscopically normal, aortic semilunar valves in pigs.

Bibliografia

- Barratt-Boyes B. G.*: Homograft aortic valve replacement in aortic incompetence and stenosis. *Thorax* 19, 131–150 (1964). – *Barratt-Boyes B. G. and Roche A. H. G.*: A review of aortic valve homografts over a six and one-half year period. *Ann. Surg.* 170, 483–489 (1969 A). – *Barratt-Boyes B. G., Roche A. H. G., Brandt P. W. T., Smith J. C. and Lowe J. B.*: Aortic homograft valve replacement. A long-term follow-up of an initial series of 101 patients. *Circulation* 50, 763–768 (1969 B). – *Binet J. P., Carpentier A., Langlois J., Duran C. et Colvez P.*: Implantation de valvules hétérogènes dans le traitement des cardiopathies aortiques. *C. R. Acad. Sc. Paris* 261, 5733–5760 (1967). – *Binet J. P., Duran C., Carpentier A. and Langlois J.*: Heterologous aortic valve transplantation. *The Lancet* 2, 1275 (1965). – *Binet J. P., Carpentier A. and Langlois J.*: Clinical use of heterografts for replacement of the aortic valve. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 55, 238–245 (1968). – *Carpentier A.*: The concept of bioprosthesis. A new approach in the surgical treatment of valvular diseases. In *Proceedings of the Vth World Congress of Cardiology, London. Cardiovasc. Res. (Abstr.)* p. 100 (1970). – *Carpentier A., Lemaigre G., Robert L., Carpentier S. and Dubost C.*: Biological factors affecting long-term results of valvular heterografts. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 58, 467–479 (1969). – *Clark R. E. and Finke E. H.*: Scanning and light microscopy of human aortic leaflets in stressed and relaxed states. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 67, 792–804 (1974). – *Edwards W. S.*: Late results with autogenous tissue heart valves. *Ann. Thorac. Surg.* 12, 385–397 (1971). – *Frater R. W. M., Berghuis J., Brown A. L. and Ellis F. H.*: Experimental and clinical use of autogenous pericardium for the replacement and extension of mitral and tricuspid valve cusps and chordae. *J. Cardiovasc. Surg.* 6, 214–219 (1965). – *Hart M. L., Beydler S. A. and Carnes W. H.*: The fibrillar structure of aortic elastine. *Scanning Electron Microscopy 1978 Vol. II IITRI*, 21–28 (1978). – *Ionescu M. I., Ross D. N., Deac R. C. and Wooler G. H.*: Heart valve replacement with autologous fascia lata. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 60, 331–348 (1972 A). – *Ionescu M. I., Smith D. R., Sutherland T. W. and Wooler G. H.*: Heart valve replacement with aortic heterografts. *Ann. Thorac. Surg.* 13, 1–15 (1972 B). – *Ionescu M. I., Tandon A. P., Mary D. A. S. and Abid A.*: Heart valve replacement with the Ionescu-Shiley pericardial xenograft. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 73, 31–49 (1977). – *Nakiri K., Jacobs G., Pennza P., Aranchiba C., Kiraly R. and Nose Y.*: Dura mater valve for cardiac prostheses. *Trans. Amer. Soc. Asig. Int. Organs Vol. XXI*, 573–576 (1975). – *Puig L. B., Verginelli G., Bellotti G., Kawabe L., Frank C. C. R., Pileggi F., Decourt L. V. and Zerbini E. J.*: Homologous dura mater cardiac valve. Preliminary study of 30 cases. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 64, 154–160 (1972). – *Ross D. N.*: Homograft replacement of the aortic valve. *The Lancet* 283, 487–500 (1962). – *Ross J. K., Lincoln J. C. R., Sapsford R. N. and Wisheart J.*: Natural history of fascia lata valves in the aortic and mitral position. *Thorax* 28, 458–465 (1973). – *Senning A.*: Fascia lata replacement of aortic valves. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 54, 465–470 (1967). – *Sharpie T. G. and Allen D. J.*: Scanning and transmission electron microscopy study of normal and methotrexate-treated endocardial cell populations in dogs. *J. Submicr. Cytol.* 10, 15–25 (1978). – *Wheeler E. E., Gavin J. B. and Herdson P. B.*: A scanning electron microscopy study of the human heart valve allografts. *Pathology* 4, 185–192 (1972).