



Uso de pericardio bovino para la corrección de cardiopatías congénitas

Use of bovine pericardium for correcting congenital cardiopathies

Juan C. Rendón, MD.⁽¹⁾; John Bustamante, MD., PhD.⁽²⁾; Jorge A. Zapata, MD.^(1, 3); Silvia Medina, RN.⁽³⁾

Medellín, Colombia.

El parche de pericardio bovino se ha utilizado como una alternativa para diferentes patologías quirúrgicas, entre las que se incluyen las malformaciones cardíacas congénitas. Pese a ello, hay pocos artículos que reportan la experiencia con este tipo parche.

El objetivo de este estudio es evaluar la experiencia con el uso de pericardio bovino para la reconstrucción de cardiopatías en la Clínica Cardiovascular Santa María, desde 1994.

MATERIALES Y MÉTODOS: se sometieron 520 pacientes a un procedimiento quirúrgico correctivo o paliativo de alguna cardiopatía congénita en la que se utilizó el parche de pericardio bovino. De éstos, 163 tenían un seguimiento de por lo menos dos años. Se evaluó la localización del parche, el tipo de procedimientos, la supervivencia, las calcificaciones, los aneurismas y las fugas. Así mismo, se evaluó la clase funcional y se comparó la supervivencia de los pacientes de acuerdo con la localización y el tipo de parche.

RESULTADOS: se realizaron 520 procedimientos en los cuales se usó el parche de pericardio bovino. Las malformaciones predominantes fueron los defectos septales (58%), seguidos de la tetralogía de Fallot (16%). También se utilizó el parche en conexiones anómalas venosas totales o parciales y atresia pulmonar, entre otros. El 50,9% estaba localizado de manera sistémica y el 49,1% en la circulación pulmonar. De acuerdo con la localización, 50,3% eran intra cardíacos y 49,7% extra cardíacos. En la implantación se reportaron dos fugas, dos sangrados y tres reintervenciones. Durante el seguimiento sólo se reportaron tres fugas. La supervivencia global fue de 95%. No hubo diferencias significativas en la supervivencia de los parches intra o extra cardíacos ni en los que soportaban la circulación sistémica o pulmonar. No se reportaron calcificaciones. El 95% de los pacientes tenían clase funcional I ó II y los restantes III ó IV.

CONCLUSIONES: el parche de pericardio bovino es una herramienta útil para la corrección de cardiopatías congénitas. Las características del tejido ofrecen al cirujano ventajas como el fácil moldeamiento, lo que permite implantarlo en diferentes zonas anatómicas.

PALABRAS CLAVE: anomalías cardiovasculares, pericardio, trasplante heterólogo, cirugía.

Bovine pericardial patch has been utilized as an alternative for different surgical pathologies, including congenital heart malformations. Nevertheless, there are only few articles that report the experience with this kind of patch.

(1) Clínica Cardiovascular Santa María, Cirugía Cardiovascular. Medellín, Colombia.

(2) Universidad Pontificia Bolivariana, Grupo de Dinámica Cardiovascular, Medellín, Colombia.

(3) Clínica Cardiovascular Santa María, Laboratorio de válvulas y tejidos, Medellín, Colombia.

Correspondencia: Juan C. Rendón, MD. Clínica Cardiovascular Santa María, Cirugía Cardiovascular, Calle 78B No. 75-21, Medellín, Colombia. Teléfono: 57-4 4422200, Correo electrónico: juanamed@hotmail.com

Recibido: 13/03/06. Aprobado: 15/05/06.

The objective of this study is to evaluate the experience with the use of bovine pericardium for the reconstruction of cardiopathies in the Santa Maria Cardiovascular Clinic Medellín since 1994.

MATERIALS AND METHODS: 520 patients underwent a corrective or palliative surgical procedure of a congenital heart disease in which the bovine pericardial patch was utilized. 163 of these patients had at least two years follow-up. The localization of the patch, as well as the kind of procedures, the survival, calcifications, aneurysms and leaks, were evaluated. The functional class was evaluated as well and the patients' survival was compared according to the localization and the kind of patch.

RESULTS: 520 procedures were realized using the bovine pericardial patch. Prevalent malformations were septal defects (58%) followed by the tetralogy of Fallot (16%). The patch was also used in total or partial anomalous venous connections, and pulmonary atresia among others. 50.9% was localized in a systemic way and 49.7% in the pulmonary circulation. According to the localization, 50.3% were intracardiac and 49.7% extracardiac. Two leaks, two bleedings and three re-interventions were reported during the implantation. During the follow-up only three leaks were reported. Global survival was 95%. There were no significant differences in survival with intra or extracardiac patches or in those that supported pulmonary or systemic circulation. No calcifications were reported. 95% of patients were in functional class I or II, and the rest in III and IV.

CONCLUSIONS: bovine pericardial patch is a useful tool for the correction of congenital heart diseases. Tissue characteristics offer advantages to the surgeon, such as the easy molding that allows implanting it in different anatomic zones.

KEY WORDS: bovine pericardial patch, congenital heart diseases, surgery.

(Rev. Colomb. Cardiol. 2007; 14: 246-252)

Introducción

Gracias a los avances tecnológicos en la medicina y específicamente en la cirugía cardíaca, se han hecho procedimientos con mayor grado de complejidad, sobre todo en los pacientes con cardiopatías congénitas. Estos procedimientos permiten hacer correcciones curativas o paliativas y para ello se requiere de diferentes tipos de elementos para reconstrucciones, tales como homoinjertos y parches autólogos, heterólogos o sintéticos, entre otros (1).

El pericardio bovino parietal, tiene un espesor de 0,3 a 0,7 mm y está compuesto por tres capas: la fibrosa, la serosa y el tejido conjuntivo peri epicárdico. La capa serosa está compuesta por células mesoteliales y la capa fibrosa por fibras de colágeno que le dan un aspecto ondulado. Entre estas fibras de colágeno, se encuentran fibras de tejido conectivo y elementos vasculares y nerviosos (2, 3).

Estas características microscópicas son similares a las del pericardio humano. La principal diferencia entre los dos radica en el grosor (2).

Desde 1984, la Institución comenzó a preservar y conservar el pericardio bovino, someténdolo a una serie de procesos químicos que incluyen limpieza de su superficie y eliminación de glicoproteínas y mucopolisacáridos

que disminuyen la acción antigénica para evitar el rechazo del parche; posteriormente se fija en glutaraldehído para que adquiera sus máximas ventajas funcionales y así se obtenga una óptima resistencia, durabilidad y antigenicidad (4). Inicialmente, el pericardio bovino se usó para la elaboración de bioprótesis cardíacas e implantación en humanos en posición mitral o aórtica. Posteriormente, se empezó a utilizar como parche, y desde ese entonces se efectúan diferentes tipos de procedimientos en los cuales se utiliza en distintas dimensiones de manera que se pueda adecuar al defecto anatómico que se va a reparar o según el procedimiento quirúrgico a realizar. Dadas las características de este material, se ha utilizado en la corrección de diferentes tipos de cardiopatías como: cierre de defectos septales auriculares o ventriculares (comunicación ínter auricular e ínter ventricular, canal AV), reconstrucciones de vasos sanguíneos pulmonares (tetralogía de Fallot, estenosis de arteria pulmonar), sistémicos (ventrículo izquierdo hipoplásico, tronco común), ampliación del tracto de salida del ventrículo derecho (tetralogía de Fallot, estenosis o atresia pulmonar), entre otros (Figura 1).

De acuerdo con el tipo de corrección, el parche puede estar localizado en diferentes sitios anatómicos (intra cardíaco o extra cardíaco), recibir un flujo sistémico o pulmonar y, por lo tanto, estar sometido a diferentes tipos de presiones y fuerzas de estrés, lo cual podría alterar su comportamiento a través del tiempo.

Por sus características de fácil moldeamiento, sutura y hemostasia en comparación con los materiales sintéticos (5, 6, 8, 9), el pericardio bovino ha surgido como una alternativa para la corrección de cardiopatías congénitas (5, 6) y como parche ha llegado a utilizarse en procedimientos correctivos o en procedimientos reconstructivos de grandes vasos, así como en la elaboración de prótesis valvulares biológicas (7). Los reportes en la literatura muestran la versatilidad de este material; sin embargo, éstos son escasos y con pequeñas muestras de pacientes. El grupo de cirugía cardiovascular de la Institución ha utilizado este material durante los últimos años para los reparos antes mencionados.

Objetivos

General

Describir la experiencia del uso de pericardio bovino para la reconstrucción de cardiopatías congénitas en la Institución en los últimos años.

Específicos

1. Describir aspectos demográficos de los pacientes estudiados.
2. Determinar el tipo de correcciones que se les han realizado a los pacientes.
3. Establecer las complicaciones que se han presentado por el uso del parche de pericardio.
4. Verificar la evolución post-operatoria de los pacientes y el comportamiento del parche a través del tiempo.

Materiales y métodos

Diseño metodológico

Este trabajo es un estudio descriptivo retrospectivo, en el cual se evaluaron todos los pacientes intervenidos en la Institución a partir de 1994, en quienes se realizó alguna corrección de malformación congénita cardiaca utilizando parche de pericardio bovino. Se revisaron las historias clínicas de los pacientes llevados a cirugía para la corrección de cardiopatías congénitas y los datos consignados en la base de datos de cirugía. Se excluyeron los pacientes que fallecieron en el post-operatorio inmediato y temprano, ya que estos decesos se atribuyeron a las condiciones clínicas del paciente. Se analizaron variables demográficas, género, edad, tipo de cardiopatía y procedimiento realizado, procedimientos previos a la cirugía, localización del parche

(intra cardiaco o extra cardiaco), tipo de presiones soportadas por el mismo (sistémica o pulmonar) y funcionalidad del parche en el post-operatorio inmediato (fugas).

Durante el seguimiento se evaluó la funcionalidad del parche y su comportamiento a través del tiempo mediante ecocardiografía y radiografía de tórax, y se valoraron las siguientes variables: presencia de estenosis, aneurismas, calcificaciones, clase funcional y supervivencia del paciente.

Análisis estadístico

La información consignada en la base de datos creada para este proceso, se trasladó a Excel y su análisis se hizo en el paquete estadístico SPSS, versión 13,0.

La descripción de las variables continuas se realizó mediante el cálculo de la media y de la desviación típica. En cuanto a las variables discretas, su descripción se llevó a cabo mediante la frecuencia y el porcentaje de ocurrencia.

Para hallar la correlación entre variables, se realizaron tablas de contingencia de 2 x 2 en las cuales se utilizó el estadístico χ^2 como medida de asociación y el valor de $p \leq 0,05$ como representativo de asociación entre las variables, acompañado del valor la razón de disparidad (OR) con su intervalo de confianza del 95%.

Para evaluar la supervivencia de los pacientes, se utilizó el método de Kaplan-Meier con el estadístico de Log-Rank y Breslow para comparar la supervivencia de los grupos, con $p \leq 0,05$ como representativo de diferencia entre ellos.

Resultados

En los últimos once años se realizaron 520 procedimientos en los cuales se utilizó el parche de pericardio bovino para la corrección de cardiopatías congénitas. En 1994 se utilizó solamente en tres casos, pero en los años siguientes se evidenció un aumento progresivo en el uso de este elemento (Tabla 1). La edad promedio de los pacientes fue de 2,8 años con un rango entre 0 y 17 años, de los cuales el 53,2% fueron hombres y el 46,8% mujeres.

El parche de pericardio bovino se utilizó en un amplio espectro de malformaciones congénitas. La corrección de defectos septales auriculares, ventriculares y el canal atrio ventricular, fueron los procedimientos en los que se utilizó con mayor frecuencia (108, 99 y 112 casos

Tabla 1
NÚMERO DE PROCEDIMIENTOS POR AÑO EN LOS CUALES SE UTILIZÓ EL PARCHES DE PERICARDIO BOVINO.

Año	Frecuencia	Porcentaje
1994	3	0,6
1995	3	0,6
1996	5	1
1997	7	1,3
1998	43	8,3
1999	44	8,5
2000	52	10
2001	36	6,9
2002	64	12,3
2003	81	15,6
2004	102	19,6
2005	80	15,4
Total	520	100

respectivamente) lo cual que corresponde al 58% de los casos, seguido por la corrección de la tetralogía de Fallot con 16%. También se utilizó en otras patologías menos frecuentes como atresia pulmonar, drenaje anómalo parcial o total de venas pulmonares y, en ocasiones, en cardiopatías con mayor grado de complejidad como el síndrome de ventrículo izquierdo hipoplásico donde se empleó para la reconstrucción de la aorta ascendente y el cayado (Tabla 2).

La mortalidad global para la totalidad de procedimientos fue del 12,9% que corresponde a un total de 67 pacientes.

De los 520 pacientes a los que se les implantó el parche de pericardio bovino, 163 tenían un seguimiento mayor o igual a dos años. En 82 pacientes (50,3%) el parche era intra cardiaco y en 81 (49,7%) extra cardiaco. En 80 casos (49,1%) el parche soportaba un flujo pulmonar y en 83 casos (50,9%) el flujo sistémico (Figura 1). En el 96,9% de los casos, los parches estaban interpuestos con el torrente sanguíneo.

El control inmediato se realizó mediante ecocardiografía intra operatoria, la cual se reportó en 77 pacientes (47,2%). Este control ecocardiográfico está supeditado al tipo de procedimiento que se realiza ya que en algunos casos no es posible realizarlo por dificultades técnicas como el tamaño del paciente o la estabilidad hemodinámica del mismo.

Luego de la corrección, se observaron dos fugas a través del parche en dos casos (1,2%). No se presentaron complicaciones intraoperatorias, infecciones ni estenosis. Tres pacientes requirieron reintervención quirúrgica, dos de ellos por sangrado.

Tabla 2
TIPO DE CARDIOPATÍAS CONGÉNITAS CORREGIDAS CON EL PARCHES DE PERICARDIO BOVINO

Tipo de cardiopatía	Frecuencia	Porcentaje
Anomalía parcial de venas pulmonares	21	4
Anomalía total de venas pulmonares	25	4,8
Anomalías venosas sistémicas	10	1,9
Atresia pulmonar	39	7,5
Tetralogía de Fallot	82	16
Canal AV	112	21,5
CIA	108	21
CIV	99	19
Cor triatriatum	2	0,4
Insuficiencia pulmonar	5	1,0
Obstrucción del tracto de salida del ventrículo derecho	19	3,7
Tronco arterioso	8	1,5
Ventrículo izquierdo hipoplásico	20	3,8

Canal AV: canal aurículo ventricular.

CIA: comunicación interauricular.

CIV: comunicación interventricular.



Figura 1. Tipo de circulación soportada por el parche.

Dentro del seguimiento dos pacientes (1,2%) se llevaron a un procedimiento posterior; uno a cirugía de Fontan y otro a ampliación infundibular. Durante la inspección directa no se reportó ninguna alteración en el parche.

El seguimiento a través del tiempo se realizó en los controles post-operatorios mediante ecocardiografía, radiografía y evaluación de la clase funcional del paciente. Durante el seguimiento se encontraron tres casos de fugas a través del parche. No se evidenciaron estenosis, calcificaciones, aneurismas ni rupturas del parche (Tablas 3 y 4).

El tiempo de seguimiento global de los pacientes osciló entre 2 y 11 años, con una supervivencia global del 95% (Figura 2).

En la evaluación del estado final se encontró que en el 93,9% de los casos el parche era funcional, y en el 6,1% restante, disfuncional.

Durante el seguimiento de la clase funcional de los pacientes, el 92,4% tenía clase funcional I, el 3,4% estaba en clase funcional II y el 4,2% restante en clases funcionales III y IV (Figura 3).

Tabla 3
COMPLICACIONES DURANTE LA CORRECCIÓN

Complicación	Frecuencia	Porcentaje
Fugas a través del parche	2	1,2
Ruptura del parche	0	0,0
Sangrado	2	1,2
Infección	0	0,0
Reintervención	3	1,8

Tabla 4
COMPLICACIONES DURANTE EL SEGUIMIENTO

Complicación	Frecuencia	Porcentaje
Estenosis	0	0,0
Fugas a través del parche	3	1,8
Calcificación	0	0,0
Rupturas	0	0,0
Aneurismas	0	0,0

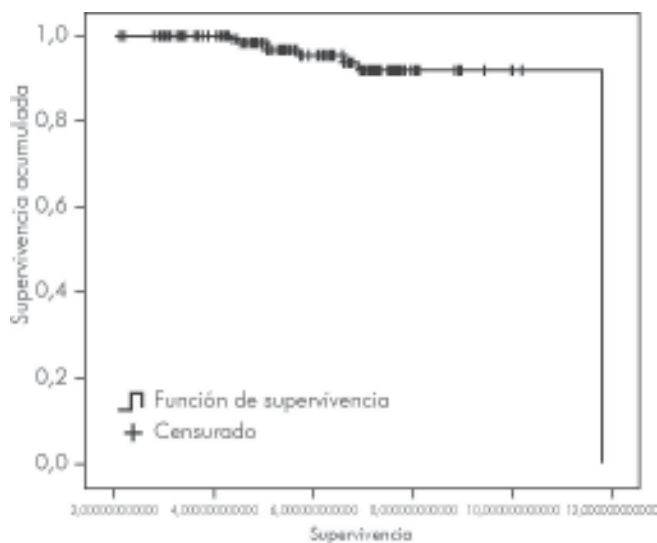


Figura 2. Supervivencia global de los pacientes con parches de pericardio bovino.

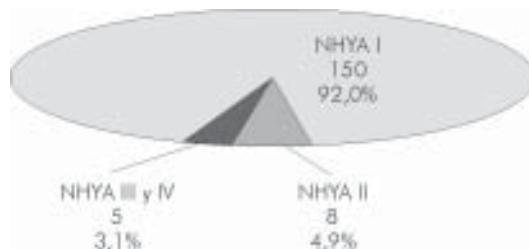
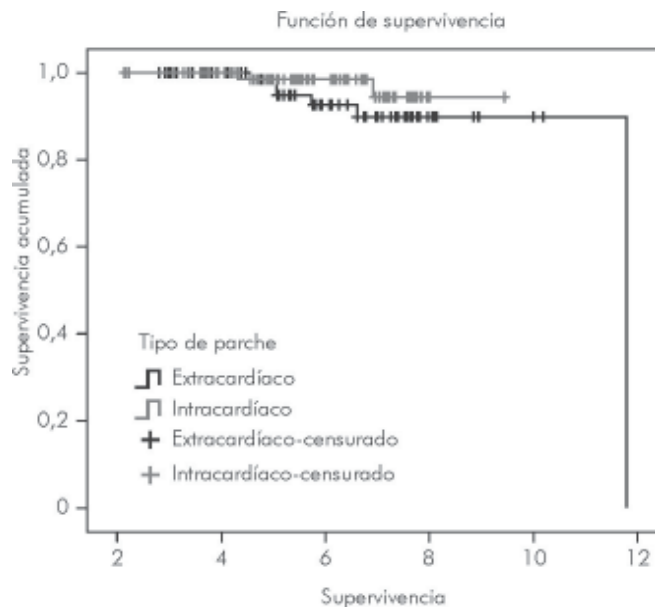


Figura 3. Clase funcional de los pacientes durante el seguimiento.

En cuanto a la evaluación de la supervivencia de acuerdo con el tipo de parche y su localización, la supervivencia para los pacientes con parches intra cardíacos era de 92,7%, mientras que para los extra cardíacos era de 97,5%. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (Figura 4).



Comparaciones globales			
	Chi-cuadrado	gl	Sig.
Log-Rank (Mantel-Cox)	1,137	1	0,286
Breslow (Generalizad Wilcoxon)	1,229	1	0,268
Tarone-Ware	1,255	1	0,263

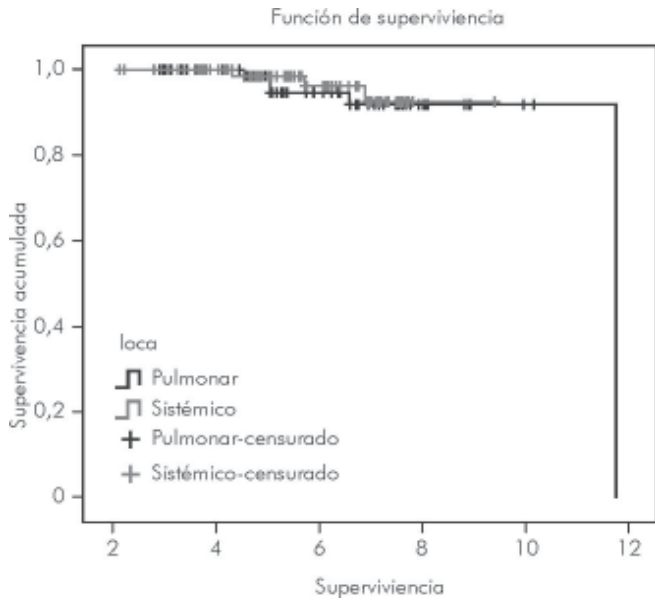
Prueba de igualdad de distribuciones de supervivencia para diferentes niveles de tipo de parche.

Figura 4. Comparación de la supervivencia entre los parches intra y extra cardíacos.

Al evaluar la supervivencia de los pacientes con respecto a la localización del parche, los pacientes con parches en localización pulmonar tenían una supervivencia de 93,8% contra 96,4% de supervivencia en los parches de localización sistémica. Esta diferencia no fue estadísticamente significativa (Figura 5).

Discusión

La corrección de cardiopatías congénitas complejas, es un procedimiento que demanda, en gran parte de los casos, la utilización de elementos como parches o conductos para lograr una reconstrucción y funcionalidad adecuadas. En algunas ocasiones se pueden utilizar



Comparaciones globales			
	Chi-cuadrado	GI	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	0,147	1	0,701
Breslow (Generalized Wilcoxon)	0,283	1	0,595
Tarone-Ware	0,227	1	0,634

Prueba de igualdad de distribuciones de supervivencia para diferentes niveles de localización.

Figura 5. Supervivencia de los pacientes de acuerdo con la localización del parche.

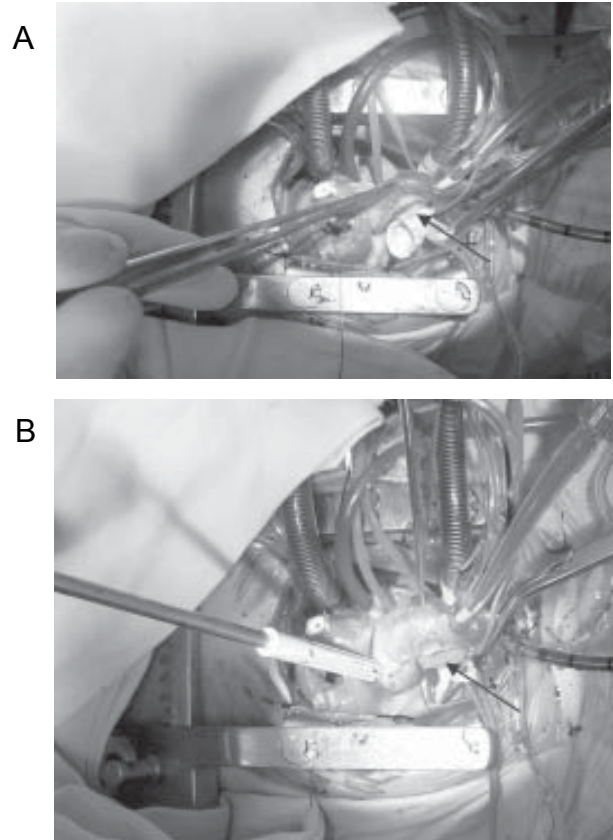
elementos del mismo paciente, como el parche de pericardio autólogo o segmentos de arteria pulmonar, pero en otras esto no es suficiente para lograr un estado funcional y anatómico apropiado. Por este motivo, se ha recurrido a parches o conductos heterólogos como los homoinjertos pulmonares o aórticos, y los parches de pericardio extraídos de otras especies. El parche de pericardio bovino es una alternativa útil gracias a su fácil obtención, procesamiento y versatilidad, como lo han descrito diferentes publicaciones (4, 8, 9). Esto le permite al cirujano una adecuada reconstrucción de las diferentes malformaciones congénitas, siendo útil en el cubrimiento de defectos de tejido donde se puede adaptar como un parche; también permite realizar la reconstrucción de elementos tubulares como vasos sanguíneos (Figuras 6A y 6B).

La Institución muestra la experiencia de 520 casos en los cuales se ha utilizado este parche; de éstos 163 tenían un seguimiento mayor a dos años. Este subgrupo fue el que se evaluó para tratar de elucidar el comportamiento del parche a través del tiempo. Durante el seguimiento se observó que la supervivencia global fue del 95%, lo cual

concuera con los hallazgos reportados por Crawford y colaboradores (10), quienes evaluaron 105 pacientes con un seguimiento promedio de treinta meses.

Los defectos septales son las malformaciones en las que este tipo de parches se utilizó con mayor frecuencia, seguido de reconstrucciones de tractos de salida del ventrículo derecho. No obstante, también se utilizó en reconstrucciones de la aorta como en la cirugía de Norwood. Al colocar el parche en los diferentes sitios anatómicos mencionados, está sometido a fuerzas de tensión y estrés, por lo que se ha postulado que esto puede debilitar la estructura del mismo, generar dilataciones o crear pequeñas fisuras en donde se pueden crear depósitos de calcio; así mismo, a medida que el paciente crece se pueden formar estenosis en los sitios de implantación.

En el estudio que aquí se describe se pretendió evaluar todas estas variables mediante el seguimiento clínico y ecocardiográfico, evidenciando que a través del tiempo



Figuras 6 A y B. Paciente con tronco común en quien luego de resear las arterias pulmonares, quedó con gran defecto en la aorta, el cual se corrigió con un parche de pericardio bovino (flechas).

no se reportaron dilataciones aneurismáticas ni estenosis. Se encontraron dos casos de fugas, pero por los métodos utilizados para el seguimiento, no es posible concluir si éstas ocurrieron por defectos en el parche o por fallas en la técnica quirúrgica. Lo mismo sucede con las complicaciones reportadas durante la implantación del mismo.

Para tratar de esclarecer si el comportamiento del parche puede variar de acuerdo con su localización y las fuerzas de tensión y estrés, se evaluaron las curvas de supervivencia de los pacientes y no se evidenciaron diferencias significativas de la supervivencia en quienes el parche tiene una localización intra cardíaca o extra cardíaca. Lo mismo se halló en los pacientes que tienen parches que soportan circulación sistémica o pulmonar. Lo anterior permite concluir que el parche de pericardio bovino se puede implantar con seguridad tanto en las cavidades cardíacas como fuera de éstas y puede soportar tanto la circulación sistémica como la pulmonar, sin presentar alteraciones importantes que afecten la funcionalidad del mismo ni la supervivencia de los pacientes.

Uno de los factores reportados en la literatura que contribuye a la disfunción de este tipo de bioimplante con el paso del tiempo, es la calcificación la cual sucede por múltiples factores (11, 12). Para evitar este problema se han utilizado varias estrategias durante el procesamiento químico del pericardio bovino como son la adición de aminoácidos y la heparinización, entre otros (7, 12, 13).

Durante el seguimiento de los pacientes no se reportaron calcificaciones, lo cual concuerda con el trabajo de Crawford (10).

En cuanto a la clase funcional, el 95,8% de los pacientes se encontraban en una clase funcional I y II y el 4,2% restante en III y IV. Esto permite concluir que las correcciones con este elemento permiten, a la mayoría de los pacientes, tener una calidad de vida adecuada.

El trabajo presenta algunas limitaciones por ser de tipo retrospectivo, sin embargo se muestra una amplia experiencia institucional con el uso de este elemento el cual es una alternativa para la corrección de este tipo de cardiopatías. Aunque hay un seguimiento hasta de once

años en algunos casos, se debe continuar la vigilancia de los pacientes a través del tiempo ya que los reportes de la literatura sobre el comportamiento dinámico de este elemento, hacen pensar que en algún momento podría presentarse algún tipo de disfunción.

Conclusiones

El parche de pericardio bovino es una herramienta útil para el reparo de cardiopatías congénitas simples y complejas. Las características del tejido permiten al cirujano un moldeamiento fácil del parche para colocarlo en diferentes regiones anatómicas sin afectar su funcionalidad ni la supervivencia de los pacientes. Es una alternativa segura y el costo es menor en comparación con otros tipos de parches.

Bibliografía

1. Nugent H, Edelman E. Tissue engineering therapy for cardiovascular disease. *Cir Res* 2003; 92: 1068-78.
2. Isahara T, Ferrans V, Jones M, Óbice S, Roberts W. Structure of bovine parietal pericardium and of implanted Ionescu-Shiley pericardial valvular bioprostheses. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1981; 81: 747-757.
3. Mavrilas D, Sinouris E, Vynios D, Papageorgakopoulou N. Dynamic mechanical characteristics of intact and structurally modified bovine pericardial tissues. *J Biomech* 2004; 1-8.
4. Bustamante J, Zapata J. Uso del pericardio bovino como bioimplante cardiovascular. *Gaceta Cardiovascular* 2005; 13: 9-11.
5. Barbero M, Tanamati C, Aitk E, Ebaid M. Intraventricular repair with noncommitted ventricular septal defect: Advantages of multiples patches. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999; 118: 1056-67.
6. Tolan M, Daubeney P, Zdenek S, Keeton B, Salmon A, et al. Aortic valve repair of congenital stenosis with bovine pericardium. *Ann Thorac Surg* 1997; 63: 465-69.
7. Lee W, Park K, Han D, Suh H, Park J, Kim Y. Heparinized bovine pericardium as a novel cardiovascular bioprosthesis. *Biomaterials* 2000; 21: 23-30.
8. Marien B, Raffetto J, Seidman C, LaMorte W, Menzoian J. Bovine pericardium vs. dacron for patch angioplasty after carotid endarterectomy. *Arch Surg* 2002; 137: 785-788.
9. Biasi G, Sternjakob S, Mingazzini P, Ferrari S. Nine year experience of bovine pericardium match angioplasty during carotid endarterectomy. *J Vasc Surg* 2002; 36: 271-277.
10. Crawford FA, Sade RM, Spinale E. Bovine pericardium for correction of congenital heart defects. *Ann Thorac Surg* 1986; 41 (6): 602-605.
11. Herrero E, Fernández P, Escudero C, García-Páez, Olivares C. Calcification of pericardial tissue pretreated with different amino acids. *Biomaterials* 1996; 17: 571-575.
12. Abolhoda A, Sumei Y, Oyazun R, McCormick J, Bodgen J, Gabbay S. Calcification of bovine pericardium: glutaraldehyde versus no react modification. *Ann Thorac Surg* 1996; 62: 169-174.
13. Grimm M, Eybl E, Grabenwöger M, Griesmacher A, Losert U, et al. Biocompatibility of aldehyde-fixed bovine pericardium. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1991; 102: 195-201.