

Allogenic arterial grafts in the treatment of patients with infected vascular grafts — the suggestion of a new way of allografts preservation

Tętnicze przeszczepy allogeniczne w leczeniu chorych z zakażonymi protezami naczyniowymi — propozycja nowego sposobu konserwacji allograftów

Marek Gacko¹, Adam Płoński¹, Roman Ostapowicz¹, Anna Andrzejewska²,
Andrzej Guzowski¹, Radosław Łapiński¹

¹Department of Vascular Surgery and Transplantology, Medical University, Białystok, Poland (Klinika Chirurgii Naczyń i Transplantacji Akademii Medycznej w Białymstoku), ²Department of Medical Pathomorphology, Medical University, Białystok, Poland (Zakład Patomorfologii Lekarskiej Akademii Medycznej w Białymstoku)

Abstract

Background. The aim of this work was to evaluate the efficacy of treating patients with infected vascular prosthesis using allografts preserved by the method of cold ischemia. A proposal of a new way to preserve allografts is also presented.

Material and methods. Arterial allografts preserved by means of cold ischemia (4°C for 7 days) have been introduced in treating patients with infected vascular prosthesis in the Department of Vascular Surgery and Transplantology of the Medical University in Białystok since May 2002. Until now, 13 patients have been treated by this method. The time elapsed from the first symptom of the infection ranged from 3 months to 6 years. The surgical procedures included the removal of infected prosthesis and simultaneous implantation of arterial allograft.

Results. A complete recovery was obtained in nine patients. Four patients had to be operated again. A complication of allograft thrombosis was observed in two patients, one patient showed dehiscence of the distal anastomosis, and, in another patient the peripheral allograft wall was interrupted in the site of collateral vessels ligation. Four patients died during the early postoperative period.

Conclusion. The use of arterial allografts is a successful way of treating vascular prosthesis infections. It is profitable to preserve arterial allografts in cold ischemia for the prolonged time of 7 days as the initial preparation for deep freeze.

Key words: arterial allografts, vascular grafts infection

Streszczenie

Wstęp. Celem pracy była ocena skuteczności leczenia chorych z zakażeniem protez naczyniowych przy użyciu allograftów konserwowanych metodą zimnego niedokrwienia. Przedstawiono w niej również propozycję nowego sposobu konserwacji allograftów.

Material i metody. Od maja 2002 r. w Klinice Chirurgii Naczyń i Transplantacji Akademii Medycznej w Białymstoku wprowadzono metodę leczenia chorych z zakażeniem protez naczyniowych przy użyciu tętnicznych allograftów konserwowanych metodą zimnego niedokrwienia (4°C przez 7 dni). Dotychczas leczono tym sposobem 13 chorych. Czas od pierwotnej operacji do wystąpienia objawów zakażenia wynosił od 3 miesięcy do 6 lat. Operacje naprawcze polegały na usunięciu zakażonej protezy i zastąpieniu jej allograftem tętnicznym.

Address for correspondence (Adres do korespondencji):

Dr hab. med. Marek Gacko, Klinika Chirurgii Naczyń i Transplantacji Akademii Medycznej w Białymstoku
ul. M. Skłodowskiej-Curie 24A, 15-276 Białystok, Poland
tel. + 48 (85) 746 82 77, fax: + 48 (85) 746 88 96

Wyniki. Całkowite wyleczenie uzyskano u 9 operowanych chorych; 4 pacjentów wymagało reoperacji. W 2 przypadkach doszło do zakrzepicy allograftu, u 1 chorego wystąpiło rozejście się dystalnego zespolenia, u 1 osoby wystąpiło przerwanie ściany w obwodowej części allograftu w miejscu odejścia podwiązanej bocznicy. We wczesnym okresie pooperacyjnym zmarło 4 chorych.

Wnioski. Zastosowanie allogenicznych przeszczepów tętnicznych stanowi skuteczną metodę leczenia chorych z zakażeniami protez naczyniowych. Korzystne jest zastosowanie wydłużonego do 7 dni czasu konserwacji allograftów tętnicznych metodą zimnego niedokrwienia jako wstępnego przygotowania do późniejszego ich przechowywania w stanie zamrożenia.

Słowa kluczowe: allogeniczne przeszczepy tętnicze, zakażenie protezy

Introduction

Infection of vascular prosthesis after arterial reconstructive operations is still an essential clinical problem. The generally accepted procedure in such cases is the removal of infected prosthesis with simultaneous preservation of limb circulation [1, 2]. Using extraanatomic grafts and recently antibiotic or silver covered prostheses are not quite satisfactory [3, 4]. Allogenic arterial grafts as well as patients own veins allowed obtaining better results in treating vessel prosthesis infections [4–7].

Freezing in liquid nitrogen is the most often used method to preserve allografts obtained from organ donors to store them for a long time but the procedure is rather complicated and it requires appropriate equipment [4–6, 8]. Preservation of allograft in cold ischemia is an easier and more available method yet it is used only by a few centres due to the short time of allografts storage [9, 10].

The aim of this work was to evaluate efficacy of treating patients with infected vascular prosthesis using allografts preserved by the method of cold ischemia. A proposal of a new way to preserve allografts is also presented.

Material and methods

Arterial allografts preserved by means of cold ischemia have been introduced in treating patients with infected vascular prosthesis in the Department of Vascular Surgery and Transplantology of the Medical University in Białystok since May 2002. Until now 13 patients have been treated by this method. The time elapsed from the first symptom of the infection ranged from 3 months to 6 years. All patients showed suppurative skin fistulas resistant to pharmacological treatment (local and systemic). The infection included aorto-bifemoral prosthesis in 7 cases (2 implanted due to abdominal aortal aneurysm, 5 implanted due to Leriche's syndrome), aorto-femoral prosthesis in 2 cases, ilio-femoral prosthesis in 2 cases, PTFE prosthesis implanted in femoro-popliteal region in 1 case and a fistula in the groin region after thrombectomy in 1 case. The allografts were prepared

Wstęp

Zakażenie protezy naczyniowej po operacjach rekonstrukcyjnych tętnic stanowi nadal bardzo istotny problem kliniczny. Ogólnie przyjętą zasadą postępowania w takim przypadku jest usunięcie zakażonej protezy z jednoczesnym odtworzeniem przepływu krwi w kończynach [1, 2]. Stosowanie w tym celu przeszczepów pozaanatomicznych, a ostatnio protez nasączanych antybiotykiem lub inkrustowanych solami srebra nie przynosiło satysfakcjonujących efektów [3, 4]. Użycie allogenicznych przeszczepów tętnicznych, a także przeszczepów z żył własnych chorego, pozwoliło na bardziej skuteczne leczenie powikłań infekcyjnych po wszczepieniu protezy naczyniowej [4–7].

Najczęściej stosowanym sposobem konserwacji allograftów pozyskiwanych od dawców narządów do transplantacji, zapewniającym długi czas ich przechowywania, jest dość skomplikowane i wymagające odpowiedniej aparatury mrożenie w ciekłym azocie [4–6, 8]. Prostsza i bardziej dostępną metodą jest konserwacja allograftu metodą zimnego niedokrwienia, jednak ze względu na krótki czas przechowywania sposób ten jest stosowany w niewielu ośrodkach [9, 10].

Celem niniejszej pracy jest ocena skuteczności leczenia chorych z zakażeniem protez naczyniowych przy użyciu allograftów konserwowanych metodą zimnego niedokrwienia. Przedstawiono również propozycję nowego sposobu konserwacji allograftów.

Material i metody

Od maja 2002 r. w Klinice Chirurgii Naczyń i Transplantacji Akademii Medycznej w Białymstoku wprowadzono metodę leczenia chorych z zakażeniem protez naczyniowych przy użyciu tętnicznych allograftów konserwowanych metodą zimnego niedokrwienia. Dotychczas leczono tym sposobem 13 chorych. Czas od pierwotnej operacji do wystąpienia objawów zakażenia wynosił od 3 miesięcy do 6 lat. U wszystkich chorych występowały skórne przetoki ropne, odporne na leczenie farmakologiczne (miejscowe i ogólne). W 7 przypadkach zakażenie

as follows: aortal sections together with iliac and femoral arteries taken from organ donors were placed into 0.9% NaCl solution containing cephasoline (10 mg/100 ml), metronidasol (7 mg/100 ml) and heparin (5000 u/100 ml) and kept at the temperature of 4°C for 7 days. This time was determined based on the literature data and our own electron microscopic examinations which showed destruction of cells in all layers of the vessel after that period, whereas the structure of elastic fibres and collagen fibres of the middle layer responsible for mechanical resistance of the vessel wall was well preserved (Fig. 1). This condition persisted for 30 days from the moment of taking the allograft. After that period the microscopic examination showed destruction of the elastic fibres and collagen fibres. Taking the above into consideration it was decided to use allografts kept for 8–30 days.

The elective surgical procedures were carried out due to the availability of allografts. The surgical procedures included the removal of infected prostheses and simultaneous implantation of arterial allografts. Five aorto-bifemoral, 3 aorto-femoral, 4 ilio-femoral and one femoro-popliteal allografts were implanted. After the operation all patients received antibiotic therapy due to the results of preoperational culture and broad spectrum antibiotic therapy.

Results

A complete recovery was obtained in 9 patients. They were discharged in good general condition with healed postoperative wounds and good blood circula-

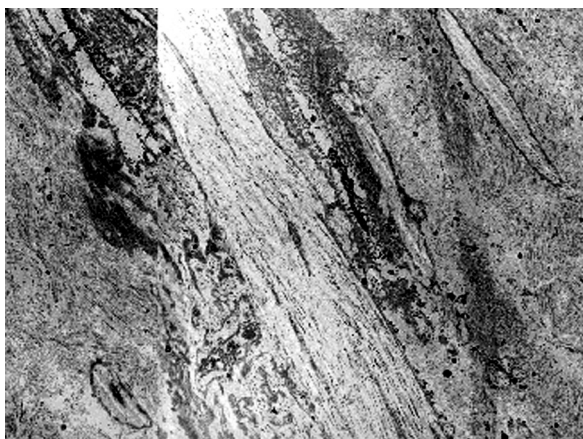


Figure 1. Electron microscopic examination of the allograft wall. Cells destruction in all layers of the vessel wall. The structure of elastic fibers and collagen fibers of the middle layer well preserved

Rycina 1. Obraz ściany allograftu w mikroskopie elektronowym. Widoczna destrukcja komórek wszystkich warstw naczynia. Struktura włókien elastycznych i włókien kolagenowych warstwy środkowej, dobrze zachowana

objęło protezy aortalno-dwuudowe (2 wszczepione z powodu tętniaka aorty brzusznej, 5 wszczepionych z powodu zespołu Leriche'a), w 2 — protezy aortalno-udowe, w 2 — protezy biodrowo-udowe, w 1 — protezę PTFE wszczepioną w odcinku udowo-podkolanowym, w 1 przypadku wystąpiła przetoka w okolicy pachwinowej po trombektomii tętnicy biodrowej.

Sposób przygotowania allograftów polegał na tym, że odcinki aorty wraz z tętnicami biodrowymi i udowymi pobrane od dawców narządów do transplantacji umieszczano w 0,9% roztworze NaCl, zawierającym cefazolinę (10 mg/100 ml), metronidasol (7 mg/100 ml) i heparynę (5000 j./100 ml), które przechowywano w temperaturze 4°C przez 7 dni. Okres ten wyznaczono na podstawie danych z piśmiennictwa i badań własnych przeprowadzonych za pomocą mikroskopu elektronowego. Stwierdzono, że po upływie tego czasu następuje destrukcja komórek wszystkich warstw naczynia. Natomiast struktura włókien elastycznych i włókien kolagenowych warstwy środkowej, odpowiadających za wytrzymałość mechaniczną ściany naczynia, jest dobrze zachowana (ryc. 1). Obraz taki utrzymywał się do 30 dni od dnia pobrania allograftu. Po tym czasie w obrazie mikroskopowym obserwowano destrukcję włókien elastycznych i włókien kolagenowych. Biorąc pod uwagę powyższe wyniki, wszczepiano allografty przechowywane 8–30 dni od momentu ich pobrania.

Operacje przeprowadzano w sposób planowy w miarę dostępności allograftów. Polegały one na usunięciu zakażonej protezy i jednoczesnym zastąpieniu jej allogenicznym przeszczepem tętnicznym. Wszczepiono 5 allograftów aortalno-dwuudowych, 3 allografty aortalno-udowe, 4 allografty biodrowo-udowe, 1 allograft udowo-podkolanowy. U wszystkich chorych po operacji stosowano antybiotykoterapię celowaną, zależną od posiewów przedoperacyjnych i antybiotykoterapię o szerokim spektrum działania.

Wyniki

Całkowite wyleczenie uzyskano u 9 operowanych chorych: wypisano ich z kliniki w stanie ogólnym dobrym, z zagojonymi ranami pooperacyjnymi, z dobrym ukrwieniem kończyn dolnych, bez objawów zakażenia. U 1 pacjenta wystąpiło rozejście się dystalnego zespolenia. Wykonano ponowną operację i uszczelniono zespolenie pojedynczymi szwami. U 1 chorego doszło do przerwania ściany allograftu w miejscu odejścia podwiązanej boczniczy. Ubytek zaopatrzonego, wszywając łatę z materiału allogenicznego. Zakrzepica allograftu wystąpiła u 2 osób. Po udrożnieniu uzyskano dobry przepływ krwi. W przebiegu pooperacyjnym zmarło 4 chorych: przyczyną zgonu był wylew krwi do mózgu w 2. dobie

tion in lower extremities, without any symptoms of infection. One patient showed dehiscence of the distal anastomosis. The reoperation was carried out tightening the anastomosis with single stitches. In another patient, the allograft wall was interrupted in the site of collateral vessels ligation. The defect was treated by a patch of allogenic material. Allograft thrombosis was observed in 2 patients. Thrombectomy was performed and good blood circulation was obtained. Four patients died during the postoperative period (stroke on the second day after the operation, cardiac infarct on the 14th day after the operation, circulatory insufficiency on the 3rd day after the reoperation due to a defect in the allograft wall and multiorgan insufficiency on the 14th day after the operation in the patient operated in the course of sepsis). Control follow-up after 1, 3 and 6 months showed good function of the allografts without symptoms of infection or disturbances of blood circulation in the lower extremities. USG doppler examination showed patency of allografts and no changes in the structure of their walls (Fig. 2).

Discussion

Freezing allografts immediately after taking and storing them in liquid nitrogen is a commonly used method of preservation allogenic grafts [4–6, 8]. It allows allografts to be kept without changes of any element vessel

po operacji, zawał serca w 14. dobie po operacji, niewydolność serca w 3. dobie po reoperacji z powodu ubytku w ścianie allograftu oraz niewydolność wielonarządowa w 14. dobie po operacji u chorego operowanego w przebiegu posocznicy.

Badania kontrolne chorych wypisanych z kliniki przeprowadzono po 1, 3 i 6 miesiącach od operacji. Wykazano dobre funkcjonowanie przeszczepów allogenicznych, brak cech zakażenia oraz brak zaburzeń ukrwienia kończyn dolnych. Podczas badań kontrolnych wykonywano również ultrasonografię dopplerowską z obrazowaniem 3D, która potwierdziła drożność przeszczepów i nie wykazała zmian w strukturze ich ściany (ryc. 2).

Dyskusja

Powszechnie stosowaną metodą konserwacji przeszczepów allogenicznych jest mrożenie ich bezpośrednio po pobraniu i umieszczanie w ciekłym azocie [4–6, 8]. Pozwala to na przechowywanie allograftu przez nieograniczenie długi czas i utrzymanie w stanie niezmiennym wszystkich elementów ściany naczynia. Metoda ta posiada jednak zasadniczą wadę, jaką jest zachowanie żywych komórek ściany allograftu po rozmrożeniu. W następstwie reakcji odrzucania komórek mięśni gładkich degradacji proteolitycznej ulegają białka strukturalne błony środkowej [11]. Proteoliza odpowiedzialnych za wytrzymałość mechaniczną włókien elastyny i włókien

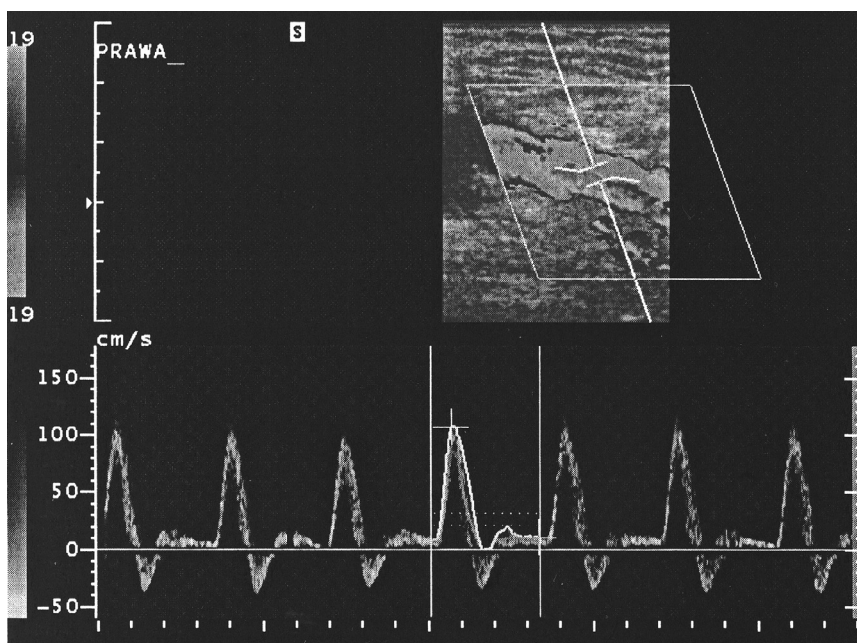


Figure 2. Duplex and color flow examination 9 months after operation showed patency of allografts and no changes in the structure of their walls

Rycina 2. Ultrasonograficzne badanie dopplerowskie 9 miesięcy po operacji wykazało drożność allograftów oraz brak zmian w strukturze ich ściany

walls and without time limitation. But the method has an essential disadvantageous drawback — the wall cells stay alive after defreezing. Structural proteins of the vascular middle layer undergo proteolytic degradation due to the reaction of rejecting smooth muscle cells [11]. Proteolysis of elastic fibres and collagen fibres responsible for mechanical resistance connected with the reaction of rejecting response may result in rupture of the allograft observed in the early postoperative period and formation of aneurysms in the later period [6, 8]. Implantation of the allograft including endothelial cells does not protect against thrombogenicity due to the fact that they are destructed about 11 days after implantation in the mechanism of acute rejection response [12]. Besides release of the platelet activation factor (PAF) [13] due to rejection response and increase of thromboxan (TxA₂) concentration, derived from cells of inflammatory infiltration initiate blood coagulation cascade [14]. It may result in the allograft thrombosis observed in the postoperative period [4]. Prevention of the rejecting response by means of immunosuppressive drugs is not possible because of the coexisting infection as well as apart from the problem of cost.

The method of preserving allografts in cold ischemia used in our clinic does not show any of the above mentioned disadvantages. It ensures elimination of cells simultaneously keeping elastic fibres and collagen fibres in good condition, allowing mechanical resistance of the vessel wall. It prevents immunological response after implanting allograft because native elastin and collagen do not have antigenic properties inside the same species. Destruction of the allograft wall cells and release of their contents into the preserving solution takes place during the preparatory phase lasting for several days. It decreases the inflammatory reaction and proteolysis of structural proteins of the implanted allograft. Another advantage of preserving allografts by the method of cold ischemia is the fact that there is no need to take into account all the problems connected with blood groups or histocompatibility. Therefore, using arterial allogenic grafts preserved by this method is an easily accessible and uncomplicated way of treating patients with infected synthetic prosthesis after reconstruction of vessels. However, a short time of using allograft, amounting to about 20 days (8–30 days after taking), is an essential restriction. After that time a destruction and fragmentation of elastic fibres and collagen fibres are observed. It makes allografts useless for implantation.

As a further development of the procedure used in our clinic to prepare allografts we suggest the method which insures absence of immunogenicity, appropriate mechanical resistance and preservation for a long time.

kolagenu, związana z reakcją odrzucania, może być przyczyną pęknięcia przeszczepu we wczesnym okresie po operacji oraz może doprowadzić do powstawania tętniaków allograftu w późniejszym czasie [6, 8]. Wszczepienie tętnicy zawierającej komórki śródbłonna nie chroni też przed trombogennością, zważywszy, że ulegają one destrukcji około 11. dnia po przeszczepieniu w procesie ostrego odrzucania [12]. Ponadto uwolnienie na skutek reakcji immunologicznej czynnika aktywującego płytki (PAF) [13] i wzrost stężenia tromboksanu (TxA₂), pochodzącego z komórek nacieku zapalnego, inicjuje kaskadę krzepnięcia [14]. Może to stanowić przyczynę obserwowanej w okresie pooperacyjnym zakrzepicy przeszczepu [4]. Zapobieganie reakcji odrzucania za pomocą leków immunosupresyjnych, niezależnie od kosztów, nie jest możliwe ze względu na współistniejące zakażenie.

Powyższych wad jest pozbawiona stosowana w Klinice Chirurgii Naczyń i Transplantacji Akademii Medycznej w Białymstoku metoda konserwacji allograftów w zimnym niedokrwieniu. Zapewnia ona eliminację komórek z jednoczesnym zachowaniem w dobrym stanie włókien elastycznych i włókien kolagenowych, warunkujących wytrzymałość mechaniczną ściany naczynia. Zapobiega to odpowiedzi immunologicznej po wszczepieniu allograftu, ponieważ natywna elastyna i kolagen w obrębie tego samego gatunku nie posiadają właściwości antygenowych. Destrukcja komórek ściany allograftu i uwolnienie do roztworu konserwującego ich zawartości zachodzi podczas wstępnej kilkudniowej fazy przygotowania. Zmniejsza to odczyn zapalny i proteolizę białek strukturalnych wszczepionego allograftu. Dodatkową zaletą konserwacji metodą zimnego niedokrwienia, pozbawiającego allograft komórek jest to, że nie ma potrzeby jego doboru w zależności od grupy krwi oraz wykonywania testów zgodności tkankowej. Zastosowanie tętnicznych przeszczepów allogenicznych konserwowanych tym sposobem stanowi zatem łatwo dostępną i nieskomplikowaną metodę leczenia chorych z zakażeniem protez syntetycznych po operacjach rekonstrukcyjnych naczyń. Zasadniczym ograniczeniem jej użycia jest jednak krótki okres przechowywania allograftu wynoszący około 20 dni (8–30 dni od pobrania). Po tym czasie obserwuje się uszkodzenie oraz fragmentację włókien elastycznych i włókien kolagenowych, co czyni allograft nieprzydatnym do wszczepienia.

Autorzy proponują zatem, jako rozwinięcie zastosowanego w ich klinice sposobu przygotowania allograftu, metodę, która zapewni brak immunogenności, odpowiednią wytrzymałość mechaniczną przeszczepu allogenicznego, a także umożliwi długi czas jego przechowywania. Metoda ta przebiega w 2 etapach: najpierw

The method includes two stages: in the first, allograft is placed in the liquid at a temperature of 4°C for 7 days to eliminate wall cells. The next stage is the freezing of the allograft at a temperature of -70°C. Because the aim of that method is the elimination of cells from the vessel wall and not keeping them alive, the freezing may be carried out without any special substrate, cryoprotectors or computer program. The allograft may then be preserved in this temperature or placed in liquid nitrogen. After several days of preservation in cold ischemia the allograft may eventually be submitted to lyophilization as the structural proteins are not damaged during this procedure [15]. The allograft, thus prepared and placed in the air-tight container, may be stored at the room temperature as long as necessary. The proposed method of preservation and storage of allogenic grafts is presented in Figure 3.

umieszcza się allograft w płynie o temperaturze 4°C na okres 7 dni w celu pozabawienia jego ściany żywych komórek, a następnie zamraża w temperaturze -70°C. Ponieważ już w założeniu sposób ten ma na celu eliminację, a nie zachowanie żywych komórek ściany naczynia, mrożenie allograftu do temperatury -70°C może odbywać się bez użycia specjalnego podłoża, krioprotektorów i programu komputerowego. Allograft można później przechowywać w tej temperaturze lub umieszczać w ciekłym azocie. Allograft po wstępnym kilkudniowym przygotowaniu można poddać również suszeniu sublimacyjnemu, ponieważ nie powoduje ono uszkodzenia białek strukturalnych [15]. Tak przygotowany allograft można przechowywać w hermetycznym opakowaniu w temperaturze otoczenia przez dowolnie długi czas. Sposób przygotowania i konserwacji przeszczepów allogenicznych przedstawiono na rycinie 3.

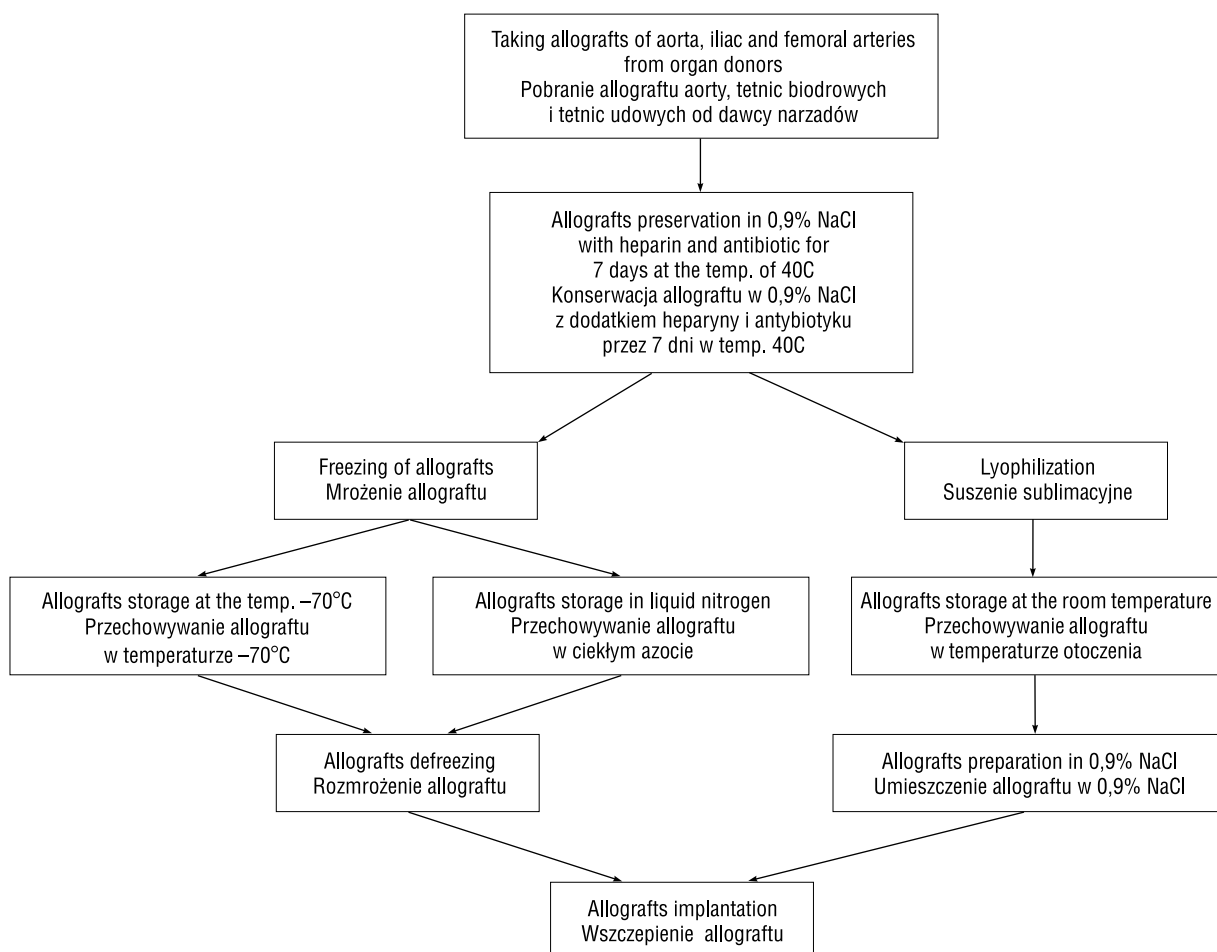


Figure 3. The proposed method of allografts preservation and storage

Rycina 3. Proponowany sposób konserwacji i przechowywania allograftów

Conclusions

1. Cold ischemia of allograft (4°C) for 7 days evokes cell elimination, prevents immunological response, inflammatory reaction and proteolytic degradation of structural proteins responsible for mechanical resistance.
2. It is profitable to preserve arterial allografts in cold ischemia for the prolonged period of 7 days as the initial preparation for deep freeze.
3. The proposed method of preserving allografts in cold ischemia combines two qualities: it prevents immunological response and allows preservation in deep freeze for a long time.
4. Lyophilization is an alternative tofor deep freeze.

References

1. Zapalski S, Pukacki F, Gabriel M (1998) Zastosowanie tętnicznych przeszczepów allogenicznych w leczeniu chorych z zakażonymi protezami aortalnymi. *Pol Przegl Chir*, 70 (5): 488–495.
2. Ziaja K, Urbanek T, Bursig H, Zaniewski M, Tochowicz M, Żabski M, Majewski E, Markiel Z (1998) Homograft w leczeniu infekcji protez naczyniowych. *Pol Przegl Chir*, 70 (9): 920–929.
3. Pupka A, Skóra J, Janczak D, Ruciński A, Korta K, Barć P, Stępiński P, Szyber P (2003) Leczenie masywnego zakażenia w chirurgii naczyniowej przy użyciu protezy dakronowej, uszczelnianej kolagenem i impregnowanej solami srebra. *Polim Med*, 33: 41–45.
4. Ziaja K, Urbanek T, Bursig H, Dyląg S (2003) Homograft w leczeniu infekcji protez naczyniowych — wyniki wczesne i odległe. *Pol Przegl Chir*, 75 (5): 460–473.
5. Vogt PR, Brunner-LaRocca HP, Lachat M, Ruef Ch, Turina MI (2002) Technical details with the use of cryopreserved arterial allografts for aortic infection: Influence on early and midterm mortality. *J Vasc Surg*, 35: 80–86.
6. Pukacki F, Gabriel M, Chęciński P, Oszkinis G, Dzieciuchowicz Ł, Zapalski S (2003) Sześćoletnie doświadczenia w zastosowaniu mrożonych tętnicznych przeszczepów alogenicznych w leczeniu chorych z zakażeniem dużych protez naczyniowych. *Pol Przegl Chir*, 75 (6): 579–595.
7. Jawień A, Ciecierski M, Grzela T, Piotrowicz R, Migdalski A, Brazis P, Frasz J (2003) Zastosowanie własnych żył udowych powierzchownych w leczeniu zakażonych protez aortalno-udowych. *Acta Angiologica*, 9: A76.

Wnioski:

1. Zimne niedokrwienie (4°C) allograftu przez 7 dni powoduje rozpad komórek, zapobiega odpowiedzi immunologicznej, wytworzeniu odczynu zapalnego i degradacji proteolitycznej białek strukturalnych odpowiedzialnych za wytrzymałość mechaniczną.
 2. Korzystne jest zastosowanie wydłużonego do 7 dni czasu konserwacji allograftów tętnicznych metodą zimnego niedokrwienia jako wstępnego przygotowania i późniejszego ich przechowywania w stanie zamrożenia.
 3. Proponowana metoda łączy zaletę konserwacji w zimnym niedokrwieniu, którą jest zapobieganie odpowiedzi immunologicznej z możliwością długiego przechowywania, jaką daje mrożenia allograftu.
 4. Alternatywą dla przechowywania allograftu w stanie zamrożenia może być suszenie sublimacyjne.
-
8. Urbanek T, Wala A, Bursig H, Ziaja K, Kuczmik W (2002) Ocena właściwości mechanicznych tętnic ludzkich poddanych procesowi wyjałowienia oraz kontrolowanego zamrażania przy wykorzystaniu krioprotektora. *Chir Pol*, 4, 3: 117–124.
 9. Pupka A, Skóra J, Dawiskiba T, Szyber P (2002) Zastosowanie homograftu tętniczego w leczeniu ograniczonego zakażenia protezy naczyniowej — opis dwóch przypadków. *Chir Pol*, 4, 4: 183–186.
 10. Geremek M, Trochimczuk M, Krasowski G, Kruk M, Borkowski M (1998) Zastosowanie przeszczepów żylnych allogenicznych w rekonstrukcjach naczyń obwodowych. *Pol Przegl Chir*, 70 (5): 484–487.
 11. Allaire E, Guettier C, Bruneval P, Plissonier D, Michel JB (1994) Cell-free arterial grafts: Morphologic characteristics of aortic isografts, allografts, and xenografts in rats. *J Vasc Surg*, 19, 3: 446–456.
 12. Williams GM, Haar A, Krajewski C et al (1975) Rejection and repair of endothelium in major vessel transplants. *Surgery*, 78, 6: 694–706.
 13. Lehr HA, Arfors KE, Hubner C, Menger MD, Messmer K (1993) Leucocyte-endothelium interaction as a target for antiatherogenic strategies in allograft transplantation. *Transplantation Proceedings*, 25 (2): 2067–2069.
 14. Hayry P, Paavonen T, Mennander A et al. (1993) Role of thromboxane in the generatio of allograft arteriosclerosis in chronic rejection. *Transplantation Proceedings*, 25 (1): 603–604.
 15. Kaliszan A (1974) Liofilizacja przeszczepów tkankowych do celów leczniczych. *Probl Tech Med*, 5, 3: 333–336.