



UvA-DARE (Digital Academic Repository)

Experimental studies on glycerol preserved vascular allografts

Fahner, P.J.

Publication date
2014

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

Fahner, P. J. (2014). *Experimental studies on glycerol preserved vascular allografts*. [Thesis, fully internal, Universiteit van Amsterdam].

General rights

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Disclaimer/Complaints regulations

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

6

Summary and conclusions

Samenvatting en conclusies

SUMMARY AND CONCLUSIONS

In **chapter 1**, the topic of this thesis is introduced and an outline of the thesis presented.

Chapter 2 provides a *systematic review of preservation methods of vascular allografts*.

No systematic review of randomized controlled trials concerning the use of preserved vascular allografts was found in literature. Five randomized controlled trials, 3 prospective cohort or case series and 15 retrospective case series were identified. Cryopreservation, cold storage and glutaraldehyde preservation have been methods used for allograft preservation. A wide range in one-year cumulative primary patency rates and major limb loss was reported for the different preservation methods used in these studies.

The heterogeneity of studies hampered a formal meta-analysis. The overall graft performance of glutaraldehyde-preserved human umbilical vein allografts, however, seemed superior to the other preservation methods. These results underscore the importance of a uniform design in clinical trials ensuring that patient characteristics, level of anastomosis and anticoagulation therapy are comparable. No clinical studies on glycerol preservation of vascular grafts were found. Therefore, a preclinical study measuring the quality of glycerol preservation of arteries in the *ex vivo* and *in vivo* setting, was undertaken in this thesis

In **chapter 3**, *morphological and functional alterations in glycerol preserved allografts* were assessed. Breaking strength, bursting pressure and functional alterations were determined in glycerol preserved, rat aortic segments. Breaking-strength, bursting pressure and the diameter of the ruptured vessel wall were not significantly different between glycerol preserved allografts and control vessels. Although endothelium-dependent or endothelium-independent contraction or relaxation was abolished, no alterations in elastin-bundle width or mean bundle distance were detected. The orientation index of the media was, likewise, preserved. Scanning electron microscopy revealed flattening of the endothelial cells and defragmentation of cellular membranes in the glycerol preserved allografts. It was concluded that the structural integrity of the aorta was well preserved after glycerol preservation and that the glycerol preserved aortic wall was strong enough to withstand normal physiological blood pressure. These results justified further testing of glycerol preserved arteries in vascular transplantation experiments.

In **chapter 4**, the outcome of *glycerol preserved allografts was studied in a rat aorta transplantation model*. A rat allograft transplantation model was developed in which wdonor rat aortas were preserved and subsequently transplanted into recipient rats. After three months of follow-up, the glycerol preserved allografts had a lower peak systolic velocity (PSV) than autografts. No aneurysms were detected in the allografts implying that glycerol preservation maintained the

structural integrity of the vessel wall. Furthermore, no significant differences were found in graft stenosis between the groups. Thickness of the intimal layer was greater in autografts than in allografts after 1 and 3 months follow-up. Width of the media was less in glycerol allografts and in both groups, no inflammatory reaction was found in the media. Cumulative graft patency rates showed no significant differences between both groups. The observation that all viable cells had died during glycerol preservation implies that the endothelial cells no longer play a role in the immunological response of the recipient due to the lack of antigen presentation.

Since the results of rat models cannot be directly applied to human vascular transplantation because of obvious dimensional differences, the next step entailed experiments in a larger animal model.

Chapter 5 deals with arterial *allografts preserved in glycerol or University of Wisconsin (UW) solution transplanted in a goat model*. Donor goat carotid arteries were preserved with glycerol or with UW solution. The latter is a well established organ preservation solution based on a colloid component and impermeants. Three months primary patency rates for glycerol allografts, UW allografts and jugular vein autografts were 93%, 100% and 80%, respectively. Although graft diameter of UW allografts increased significantly during three months follow-up, the glycerol allografts showed no aneurysm formation. Glycerol better preserved the matrix of the vessel wall as compared to UW.

Isometric contraction and relaxation tests in these experiments demonstrated renewed graft functional capacity after implantation which implicated ingrowth of recipient endothelial and smooth muscle cells into the preserved vascular tissue matrix. Scanning electron microscopy showed a confluent layer of endothelial cells in both glycerol and UW allografts.

These results demonstrate the feasibility of a glycerol preserved allograft in a large animal model.

In **Chapter 6** a summary of the studies is presented along with the main conclusions.

Chapter 7 provides an overall discussion of the main conclusions of this thesis and ends with a view on future perspectives concerning the topic.

SAMENVATTING EN CONCLUSIES

In **hoofdstuk 1** wordt het onderwerp van dit proefschrift geïntroduceerd en wordt een overzicht van het proefschrift gepresenteerd.

Hoofdstuk 2 handelt over een *systematisch overzicht van preservatie methoden van vasculaire transplantaten*. In de literatuur werd geen systematisch overzicht van gerandomiseerd gecontroleerde studies gevonden betreffende het gebruik van gepreserveerde vasculaire transplantaten. Vijf gerandomiseerd gecontroleerde studies, 3 prospectieve cohort of enkelvoudige studies en 15 retrospectieve enkelvoudige studies werden geïdentificeerd. Cryopreservatie, koude opslag en glutaraaldehyde preservatie zijn technieken die werden gebruikt voor transplantaat preservatie. Er bestond een grote spreiding binnen deze studies waarin verschillende preservatie technieken werden gebruikt voor wat betreft de cumulatieve primaire patency rate en het verlies van een onderbeen of bovenbeen. De heterogeniteit van de studies stond het uitvoeren van een formele meta-analyse in de weg. Echter de algehele prestatie van de glutaraaldehyde gepreserveerde humane navelstreng vene leek superieur ten opzichte van de andere preservatie technieken. Deze resultaten onderstrepen het belang van een uniforme studieopzet bij klinische studies waarbij zorg wordt gedragen voor het feit dat patiënt karakteristieken, het niveau van de anatomose en antistolling therapie met elkaar kunnen worden vergeleken. Een klinische studie naar het gebruik van een glycerol gepreserveerd vasculair transplantaat werd niet gevonden. Daarom werd in dit promotie onderzoek een analyse verricht naar de kwaliteit van glycerol preservatie van arteriën in een *ex vivo* en *in vivo* onderzoeksmodel.

In **hoofdstuk 3** worden de *morfologische en functionele veranderingen in een glycerol gepreserveerd transplantaat* geanalyseerd. Breekkracht, scheurkracht en functionele veranderingen werden onderzocht in glycerol gepreserveerde aorta segmenten van de rat. Breekkracht, scheurkracht en de diameter van het vat waarbij de vaatwand scheurde was niet significant verschillend tussen glycerol gepreserveerde transplantaten en controle vaatsegmenten. Hoewel endotheel-afhankelijke of endotheel-onafhankelijke contractie en relaxatie werd uitgeschakeld na glycerolpreservatie werden er geen veranderingen vastgesteld in breedte van de elastine bundels of gemiddelde onderlinge afstand tussen deze bundels. Ook de oriëntatie index in de media bleef onaangetast. Scanning elektronen microscopie toonde een afvlakking van de endotheel cellen en fragmentatie van het celmembraan van het glycerol gepreserveerde transplantaat. Er werd geconcludeerd dat de structurele integriteit van de aorta goed bewaard bleef en de vaatwand bestand bleek tegen normale fysiologische bloeddrukken na glycerol preservatie. Deze resultaten rechtvaardigden vervolg onderzoek naar een glycerol gepreserveerde arterie in vaat transplantatie experimenten.

In **hoofdstuk 4** worden de resultaten van een *glycerol gepreserveerd transplantaat in een rat aorta transplantatie model* beschreven. Een ratten model voor vaattransplantaties werd ontwikkeld waarbij de aorta van een donor rat werd gepreserveerd en vervolgens getransplanteerd naar een ontvangende rat. Na een evaluatie periode van drie maanden toonden de glycerol gepreserveerde transplantaten een lagere piek systolische snelheid (PSV) vergeleken met de autografts. Er werd geen aneurysma formatie waargenomen in de transplantaten wat betekende dat na glycerol preservatie de structurele integriteit van de vaatwand bewaard bleef. Verder bleken er geen significante verschillen te bestaan tussen de groepen voor wat betreft het optreden van transplantaat stenose. De intima was dikker in de autotransplantaten dan in de glycerol gepreserveerde transplantaten na een vervolg periode van 1 en 3 maanden. De media was dunner in de glycerol gepreserveerde transplantaten en in beide groepen werd er geen ontstekingsreactie gezien in de media. De cumulatieve graad waarin de transplantaten patent waren, bleek niet verschillend voor beide groepen. De wetenschap dat er geen levende cellen meer over bleven na de glycerol preservatie betekende dat de endotheel cellen geen rol meer speelden in de immunologische response van de transplantaat ontvanger vanwege de afwezigheid van antigeen presentatie. Omdat er natuurlijk duidelijke verschillen zijn in dimensies tussen rat en mens, kunnen de resultaten vanuit het ratten model niet direct worden geëxtrapoleerd naar vaat transplantaties bij de mens. Daarom werd als volgende stap een serie experimenten uitgevoerd in een groter proefdier model.

Hoofdstuk 5 handelt over *arteriële transplantaten in een geiten model welke zijn gepreserveerd in glycerol of in een University of Wisconsin (UW) oplossing*. De arteria carotis van donor geiten werd gepreserveerd in glycerol of UW oplossing. De laatste is een weid geaccepteerd orgaan preservatie medium gebaseerd op een colloïde en dragerstof. De primaire patency rate na 3 maanden bleek voor glycerol transplantaten, UW transplantaten en autotransplantaten van de vena jugularis, 93%, 100% en 80% respectievelijk. Hoewel de diameter van de UW transplantaten na 3 maanden controle significant was toegenomen, werd bij de glycerol transplantaten geen aneurysma vorming waargenomen. In vergelijking met UW bleef bij glycerolpreservatie de matrix van de vaatwand beter behouden. De isometrische contractie en relaxatie experimenten binnen deze studie lieten zien dat er opnieuw functionele contractie en relaxatie mogelijk werd in de vaatwand na implantatie. Dit impliceerde ingroei van endotheel en gladde spiercellen van de getransplanteerde dieren in de gepreserveerde vasculaire weefsel matrix. Met behulp van scanning elektronen microscopie werd aangetoond dat er een aaneengesloten laag van endotheel cellen was ontstaan in zowel de glycerol als UW transplantaten. De resultaten uit deze studie toonde aan dat een glycerol gepreserveerd transplantaat kon worden toegepast in een groot dier model.

In **hoofdstuk 6** wordt een overzicht gegeven van de studies aangevuld met de belangrijkste conclusies.

Hoofdstuk 7 geeft een algemene discussie over de belangrijkste conclusies van dit proefschrift en sluit af met een visie op mogelijke ontwikkelingen in de toekomst aangaande het onderwerp.