

## Inmunología cardiovalvular

*M.<sup>a</sup> Teresa Lledías Ferro*

### RESUMEN

Se estudia por inmunoelectroforesis la composición antigénica del corazón y válvulas de cuatro especies de mamíferos. Por medio de reacciones cruzadas se establece la comunidad antigénica de las mismas. Se realizan heterotransplantes valvulares experimentales para determinar el rechazo inmunológico. Los resultados encontrados han sido:

- a) Por inmunoelectroforesis fueron detectados 32 antígenos en el tejido cardíaco de la rata, 11 en el perro, 13 en el cerdo y 12 en el corazón humano.
- b) En las válvulas cardíacas del cerdo y perro se encontraron 5 antígenos y en las humanas 3.
- c) Empleando sistemas heterólogos fue posible detectar reacción cruzada entre los antígenos cardíacos y valvulares de las cuatro especies.
- d) En los heterotransplantes heterotópicos no variaba el título de anticuerpos seguido por hemaglutinación.
- e) El estudio histológico de las válvulas implantadas demuestra la ausencia persistente de células pironina positivas.

Los resultados muestran la comunidad antigénica cardiovascular entre las diferentes especies. Dicha comunidad confirma el empleo de válvulas de cerdo en heterotransplantes experimentales de perro, así como la viabilidad de estos heteroinjertos en la clínica humana.

Las investigaciones inmunológicas sobre el corazón, apuntan hacia dos problemas que tiene planteados la clínica humana. Por una parte se estudia la relación que guardan algunas alteraciones y síndromes cardíacos con la autoinmunidad. Kaplan<sup>18</sup> en un symposium sobre inmuni-

dad cardíaca, recoge en 71 referencias los datos más señalados sobre las enfermedades y síndromes cardíacos de origen autoinmune. Por otra parte, se discute la realidad de los transplantes como tratamiento en cardio y valvulopatías<sup>4, 5, 6, 10, 25</sup>.

Ambos problemas plantean una necesidad común: el análisis de la estructura antigénica del tejido cardíaco<sup>3, 12, 13, 19, 22</sup>. A su vez, los problemas mencionados, se interrelacionan con el de la diferenciación celular que veníamos estudiando en nuestro laboratorio<sup>29</sup>. Mediante análisis inmunolectroforéticos determinábamos los cambios antigénicos que se producían al diferenciarse las células en tejidos, dentro de un individuo, y las diferencias entre especies<sup>1, 9</sup>.

En lo que respecta a los heteroinjertos valvulares, han sido superadas las dificultades técnicas que presentaban<sup>7</sup> aunque siguen relativamente desconocidos los problemas biológicos. En este sentido, las investigaciones inmunológicas, pueden aportar datos muy positivos.

De aquí que el planteamiento de nuestro trabajo nos llevó a realizar un estudio basal sobre análisis antigénico de los corazones de diferentes especies. Pretendíamos detectar el mayor número posible de antígenos, así como los diferentes tipos de componentes antigénicos y su localización a nivel subcelular. En segundo lugar, establecer por reacción cruzada las analogías y diferencias que pudiesen existir entre los corazones y válvulas de las especies analizadas, tanto en los extractos cardíacos, como en las estructuras subcelulares.

Finalmente, realizamos un estudio experimental sobre heterotransplantes valvulares, en los cuales se estudió por una parte la respuesta humoral y celular y por otra las bases antigénicas que condicionan esa respuesta.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### a) *Tejidos utilizados*

Se obtuvieron 25 corazones de rata Wistar, 15 de cerdo, 15 de perro y 5 huma-

nos. También fueron utilizados en éste estudio las válvulas pulmonares y aórticas de 210 cerdos, 10 hombres y 15 perros y el músculo estriado de las cuatro especies.

### b) *Obtención de fracciones subcelulares*

El aislamiento de las fracciones subcelulares (mitocondrial, microsomal y citoplasmática soluble) de las distintas especies, se llevó a cabo con los órganos recién obtenidos. Se siguió el método de Hogeboom<sup>17</sup>.

### c) *Preparación de antígenos*

Los extractos acuosos y los antígenos obtenidos, se efectuaron según la técnica descrita por Ortiz de Landázuri<sup>26</sup>.

### d) *Sueros e inmunosueros*

La batería de sueros empleados se componía de:

—Sueros controles normales de las distintas especies (rata, perro, cerdo y hombre).

—Sueros de perros obtenidos a diferentes días de implantadas las válvulas de cerdo.

—Inmunosueros frente a suero humano normal, corazón humano, corazón de rata, de perro y de cerdo.

La pauta de inmunización se llevó a cabo siguiendo la técnica de Tormo<sup>32</sup>. Con el suero procedente de las sangrías finales de cada conejo, se obtuvo una mezcla total de concentración óptima que fue sometida a diversas absorciones. Las absorciones se realizaban mediante la adición al inmunosuero total de los correspondientes antígenos en la proporción anticuerpo-antígeno de 1-0,1. La mezcla se incubaba durante una hora a 37° C y luego dieciocho horas a 4° C.

Posteriormente se centrifugaba desechando el sedimento.

e) *Técnicas*

Los estudios inmunológicos se efectuaron con la técnica de inmunodifusión de Ouchterlony según la modalidad descrita por Kagan y Norman<sup>21</sup>, y por la técnica de inmunoelectroforesis de acuerdo con el método de Scheidegger<sup>30</sup>. También se empleó en los estudios especiales, la técnica de Osserman<sup>27</sup> que combina la inmunodifusión con la inmunoelectroforesis.

Los estudios cuantitativos de anticuerpos, se llevaron a cabo con la técnica de la hernaglutinación pasiva de Boyden según el método modificado por Lewis<sup>23</sup>.

f) *Heteroimplantes y  
transplantes valvulares*

Fueron intervenidos un total de 124 perros según la técnica de Durán<sup>11</sup>. Las válvulas se depositaron en músculo y peritoneo de esta forma: 29 fueron implantadas con cámara de metacritato de metilo y membrana de millipore en las cavidades de la cámara. En 9 perros, las válvulas se depositaron en cámaras sin millipore. Finalmente, en 32 perros se implantaron directamente en músculo; en 29 en peritoneo y en 24 se transplantaron en la aorta descendente.

Todos los animales fueron reoperados entre los 2 y 6 meses y la válvula implantada o transplantada era examinada macroscópicamente y mediante examen histológico en busca de células pironina positivas.

## RESULTADOS

### A) *Composición antigénica del corazón*

Se llevó a cabo mediante el estudio de los homogenizados totales y de las fracciones subcelulares. Los corazones se enfrentaron por inmunoelectroforesis con los inmunosueros (fig. 1) dando lugar a los arcos de precipitación que correspondían a los antígenos séricos (S), cardiomusculares (CM) y cardíacos o propios (C).

Con los resultados parciales obtenidos en cada sistema estudiado (fig. 2) se formaron patrones antigénicos en los que constaban todos los antígenos encontrados en el corazón inmunológicamente diferentes y su localización a nivel subcelular (tabla I). Se obtuvieron los siguientes resultados totales que se recogen en la tabla II: 32 antígenos en el corazón de rata (15 S, 5 CM, 12C); 11 antígenos en el corazón de perro (4 S, 3 CM, 4 C); 13 antígenos en el de cerdo (8 S, 5 CM) y 12 en el corazón humano (6 S, 3 CM, 3 C).

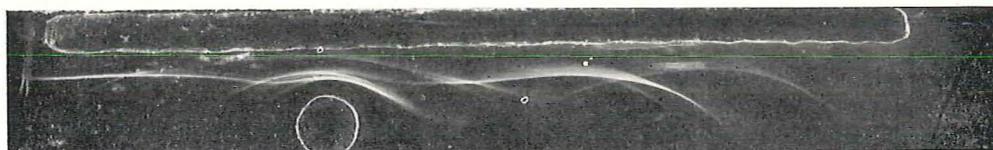


Fig. 1. Antígenos séricos del corazón de rata. En el pocillo va colocado el antígeno, en el canal el inmunosero.

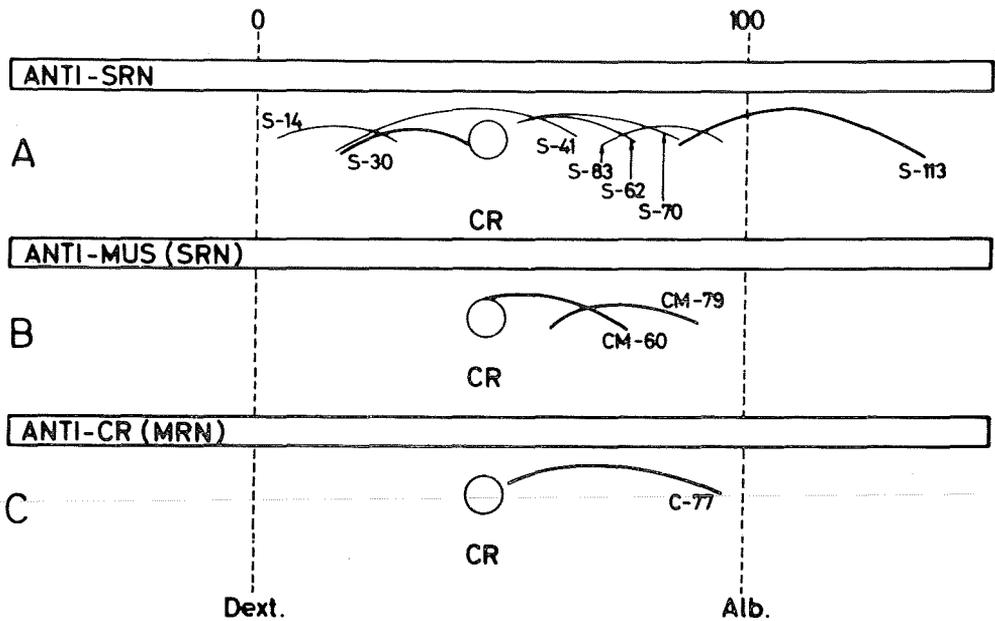


Fig. 2. Representación esquemática de los distintos antígenos encontrados en el homogenizado de corazón de rata.

T A B L A I  
ANTIGENOS DE CORAZON DE HOMBRE DISTRIBUCION INTRACELULAR

antígeno	homog. CH	f.citoplasm.	f.mitocondr.	f.microsom.
S - 18	Ⓢ	Ⓢ	Ⓢ	Ⓢ
C - 20	▲	▲		
CM - 29		●	●	
S - 35	Ⓢ	Ⓢ		Ⓢ
S - 51		Ⓢ	Ⓢ	Ⓢ
C - 58		▲	▲	
CM - 60				●
CM - 80	●			
C - 83	▲	▲	▲	▲
S - 89			Ⓢ	Ⓢ
S - 91		Ⓢ	Ⓢ	
S - 100	Ⓢ	Ⓢ	Ⓢ	Ⓢ

Ⓢ séricos ; ● comunes con músculo ; ▲ propios

T A B L A I I

PATRON ANTIGENICO DE LOS CORAZONES ESTUDIADOS

RATA

- C—(-10)
- C—0
- \* S—8
- S—14
- C—22
- \* S—14
- C—25
- S—26
- S—30
- \* C—36
- C—40
- C—42
- \* S—43
- C—48
- CM—50
- \* S—56
- CM—60
- C—61
- C—62
- C—63
- C—69
- S—70
- S—76
- C—77
- CM—79
- S—83
- \* S—85
- \* S—90
- CM—98
- \* S—100
- CM—100
- \* S—113

CERDO

- \* S—(-3)
- CM—0
- S—19
- \* S—30
- S—26
- CM—36
- S—40
- \* S—43
- CM—46
- \* S—52
- CM—56
- CM—56
- \* S—96

HOMBRE

- \* S—18
- \* C—20
- CM—29
- \* S—35
- C—58
- \* S—51
- \* CM—60
- C—83
- \* CM—80
- S—89
- \* S—91
- \* S—100

PERRO

- C—(-2)
- S—11
- \* C—15
- \* C—38
- CM—52
- \* S—48
- \* CM—58
- S—77
- \* CM—81
- C—90
- \* S—100

\* Antígenos que dieron reacción cruzada.

B) *Composición antigénica de las válvulas*

Se empleó la misma sistemática de estudio que en los corazones, prescindiendo de las válvulas de rata y del fraccionamiento subcelular. En la válvula de perro se encontraron 5 antígenos (4 S, 1 CM), en la de cerdo 5 (4 S, 1 CM) y en la humana 3 (S). En la tabla III se resumen estos resultados.

C) *Reacción cruzada entre los antígenos cardíacos y valvulares*

Detectamos la presencia de antígenos comunes a las cuatro especies, estableciendo así las analogías y diferencias (fig. 3). En los análisis de reacción cruzada cardiovalvular de las especies estudiadas, no encontramos ninguna diferencia entre los datos obtenidos por inmunoelectroforesis y los encontrados por inmunodifusión.

D) *Heterotransplantes de válvulas*

El estudio de la evolución de los transplantes se llevó a cabo mediante el examen macroscópico de las válvulas obte-

nidas en la reoperación, el estudio de la evolución de los anticuerpos humorales y el examen histológico de estas válvulas.

En las reoperaciones efectuadas a diferentes días, el examen macroscópico de las válvulas era satisfactorio incluso en el caso de las reoperadas a los 60 días en las que la válvula presentaba una turbancia y brillo normales.

La reacción humoral fue seguida mediante niveles de anticuerpos heterólogos detectados por hemaglutinación. Los valores medios de todas las hemaglutinaciones efectuadas se sumarizan en la tabla IV. En los 104 perros intervenidos no se encontró aumento significativo de rechazo humoral, sobre todo si se compara con conejos inoculados a la vez, en los que el título se elevó progresivamente. El estudio de la desviación standard mostró que efectivamente estas diferencias no tenían ningún valor y que por lo tanto el título no se modificaba con la implantación valvular.

Los informes remitidos de anatomía patológica, detectaron que en los primeros días de la implantación se encontró un infiltrado de células mononucleares como ocurre en el caso de una inflamación típica. Las células de las válvulas sufrían un proceso de cariólisis desapareciendo

T A B L A    I I I  
PATRON ANTIGENICO DE LAS VALVULAS ESTUDIADAS

CERDO	PERRO	HOMBRE
* S — (—3)	* S — 11	
* S — 43	* S — 48	
* S — 52	* CM — 58	* S — 18
* CM — 56	S — 77	* S — 51
* S — 96	* S — 100	* S — 100

\* Antígenos que dieron reacción cruzada.

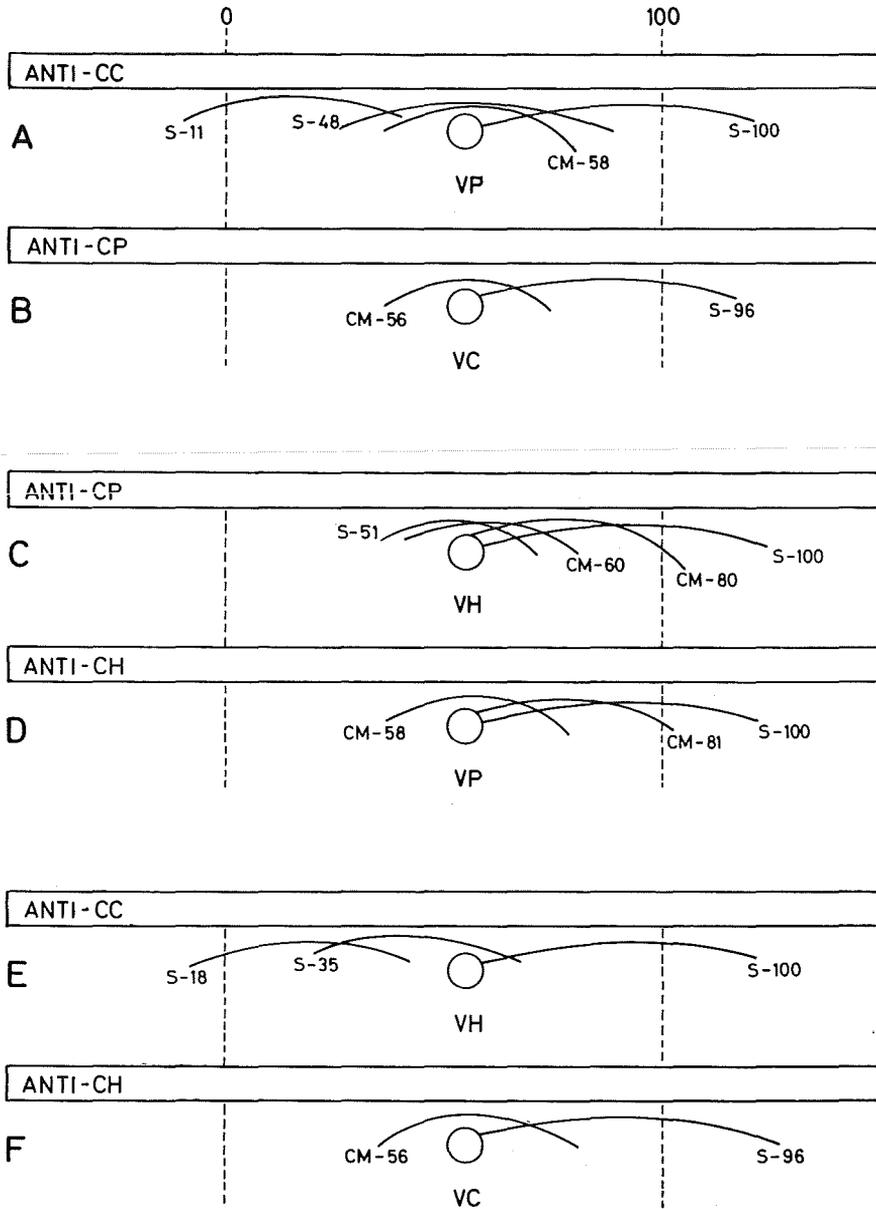


Fig. 3. Bandas de precipitación formadas en todos los sistemas heterólogos empleados en el análisis antigénico de las válvulas estudiadas. A.B.: reacción cruzada entre la válvula de perro y cerdo, C.D.: reacción cruzada entre la válvula humana y la de perro, E.F.: reacción cruzada entre la válvula de cerdo y la humana.

## T A B L A I V

## VALORES MEDIOS DEL TITULO RECIPROCO DE ANTICUERPOS

	N <sup>o</sup>	DIAS DE LAS SANGRIAS EFECTUADAS				
		0	10	20	30	60
PERROS CON VALVULA CERDO	104	52	43	38	178	16
CONEJOS INMUNIZADOS	6	0	NT	NT	NT	819.200

y quedando las válvulas acelulares. Posteriormente en una fase de sustitución se reprobaba la válvula de nuevos fibroblastos y vasos sanguíneos. Las fibras de colágeno y elásticas mantienen su estructura sin modificarse ni alterarse (fig. 4).

En lo que se refiere a la expresión de la respuesta celular por parte del huésped, se manifiesta por la aparición de células pironina positivas. En nuestras experiencias aparecieron a los 40 días de la implantación en músculo y más tarde en peritoneo. Sin embargo resultó ser un fenómeno pasajero.



Fig. 4. Corte de válvula de cerdo implantada en músculo de cerdo. La fotografía muestra la integridad de las fibras de colágeno y elásticas.

## DISCUSIÓN

A) *Composición antigénica del corazón*

Desde que Bailey<sup>2</sup> inicia en el año 1941 los estudios sobre antigenicidad cardíaca hasta nuestros días, no abundan trabajos sobre la estructura antigénica del tejido cardíaco.

Las técnicas empleadas por la mayoría de los autores son esencialmente cuantitativas (hemaglutinación, fijación de complemento, precipitación capilar). Algunos como Gery<sup>15</sup> emplean la doble difusión de Ouchterlony. Nosotros empleamos la inmunolectroforesis e inmunodifusión.

El número de antígenos encontrado en los corazones estudiados es escaso. Halbert<sup>16</sup> encuentra 5 antígenos en el corazón de rata. Kushner<sup>22</sup> hace referencia a la existencia en el corazón de perro de 1 antígeno cardiomiocármico. Respecto al corazón de cerdo no hemos encontrado datos significativos sobre su estudio inmunológico. En el corazón humano Kushner<sup>22</sup> encuentra de 12 a 15 antígenos no séricos, de los cuales 7 desaparecieron al absorber con hígado; 3 eran comunes a múltiples órganos; 1 era cardiorenal y 1 cardiomiocármico identificado como mioglobina. Halbert<sup>16</sup> por inmunodifusión encuentra 6 antígenos no séricos. Nosotros hemos podido detectar hasta 32 antígenos en la rata, 11 en el perro, 13 en el cerdo y 12 en el corazón humano.

En lo que se refiere al origen de los antígenos Bailey<sup>3</sup> empleando anafilaxia pasiva, describe en la rata y el perro 1 antígeno cardiomiocármico. En el corazón humano Kushner<sup>22</sup> habla de 1 antígeno identificado como mioglobina y Kaplan<sup>20</sup> encuentra 2 antígenos cardiomiocármicos.

Nosotros según nuestra nomenclatura, encontramos en la rata 15 antígenos sé-

ricos, 5 cardiomiocármicos y 12 cardíacos; 11 en el corazón de perro de los cuales 4 eran séricos, 3 cardiomiocármicos y 4 cardíacos; en el cerdo 13 (8 S y 5 CM) y en el tejido cardíaco humano 12 (6 S, 3 C My 3 C).

La mayoría de los autores no citan la localización de los antígenos encontrados. Kaplan<sup>20</sup> atribuye una localización en las mitocondrias o en el retículo sarcoplásmico a un antígeno encontrado por él de origen específico.

En nuestro trabajo estudiamos la distribución en las fracciones subcelulares de los 32 antígenos del corazón de rata encontrando 22 en la fracción citoplásmica soluble (FCS); 12 en la fracción mitocondrial (FM) y 12 en la fracción microsomal ribosomal (FMR); en el corazón de perro de los 11 antígenos encontrados, 5 estaban en la FCS, 4 en la FM y 5 en la FMR; el corazón de cerdo contenía 7 antígenos en la FCS, 8 en la FM y 8 en la FMR; finalmente en el tejido cardíaco humano encontramos 9 antígenos en la FCS, 8 en la FM y 7 en la FMR. De los antígenos localizados en las distintas fracciones subcelulares, unos eran propios de una fracción y otros comunes a dos o más fracciones.

En el estudio de las reacciones cruzadas, la mayoría de los autores emplean inmunosueros sin absorber. Gery<sup>15</sup> encuentra reacción cruzada entre el perro, oveja, rata, hombre, cobaya y pollo. Casi todos van en busca de antígenos específicos de órgano. Kushner<sup>22</sup> encuentra 1 antígeno cardiomiocármico presente en todas las especies analizadas. Halbert<sup>16</sup> habla de 1 antígeno que da reacción cruzada entre corazón humano, rata y vaca, empleando la inmunodifusión e inmunosueros absorbidos.

Los resultados obtenidos por nosotros y que se recogen en la tabla I, muestran una reacción cruzada mucho más abundante.

Las razones que pueden justificar las discrepancias entre los resultados expuestos pueden ser las siguientes:

1. Nuestro objetivo al enfocar el estudio de la inmunología cardíaca fue poner de manifiesto el mayor número posible de antígenos, conocer su origen, su localización a nivel subcelular y comprobar si estos antígenos eran comunes a más especies.

Nunca se había efectuado un estudio amplio que alcanzase el total de los antígenos existentes en el corazón humano y animal. Los distintos autores abordan el estudio inmunológico en busca de antígenos específicos de órganos causantes de enfermedades autoinmunes.

2. Para ello hemos utilizado técnicas semicualitativas y cualitativas como la inmunodifusión y la inmunoelectroforesis por ser más idóneas para individualizar e identificar cada antígeno. Posiblemente la diferencia numérica de componentes antigénicos detectados por nosotros, puede ser debida al empleo de dichas técnicas, a la mayor concentración de antígenos en las fracciones y a la potencia de los inmunosueros empleados.

3. El tejido cardíaco ha sido analizado desde un punto de vista global, sin especificar las diferencias antigénicas que presenta. Nosotros hemos agrupado los antígenos en comunes con suero, comunes con músculo esquelético y no comunes con suero ni con músculo, denominándoles respectivamente: séricos, cardiomusculares y cardíacos o propios.

Aunque no hemos estudiado los antígenos específicos, en la bibliografía revisada tampoco se han encontrado los que nosotros denominamos propios. Lo que algunos autores llaman específicos, no son sino antígenos no comunes a suero, músculo, hígado y riñón haciéndose imposible un análisis exhaustivo que incluyese el enfrentamiento a todos los órga-

nos de la economía humana, por lo cual, dicho término específico, no debe entenderse nada más que en un sentido amplio. Por tanto, dentro de los antígenos que nosotros denominamos propios, se incluyen los específicos.

4. La distribución intracelular de los antígenos por parte de los autores es muy escasa e imprecisa. El empleo de fraccionamiento subcelular nos permitió, además de una mayor concentración de antígenos, completar los resultados obtenidos al estudiar los homogenizados totales y localizar los antígenos en las diferentes fracciones.

Minuciosos estudios llevados a cabo para el reconocimiento de estos antígenos, nos han permitido detectar que existen componentes antigénicos que son comunes a las tres fracciones, mientras que otros están presentes en dos de ellas o solamente aparecen en una. La presencia de antígenos comunes a las tres fracciones nos parece que tiene un gran interés porque puede ser expresión de constituyentes primarios del tejido.

Pensamos como dice Espinosa<sup>14</sup> que el fraccionamiento tisular pone de relieve un mayor número de determinantes antigénicos que de otra forma quedarían ocultos.

5. El empleo de inmunosueros absorbidos en el estudio de la reacción cruzada, así como el sistema de estudio seguido (antígenos problema frente a inmunosueros heterólogos y viceversa), nos permitió conocer e identificar un mayor número de componentes comunes. Pudimos determinar entre qué tipo de antígenos séricos, cardiomusculares o cardíacos, había reacción cruzada.

#### B) *Respuesta inmunológica a las válvulas implantadas*

Carpentier<sup>8</sup> dice en su trabajo que no encuentra anticuerpos por hemaglutina-

ción e inmunofluorescencia en el suero de los animales receptores de válvulas. Sin embargo, Merendino<sup>24</sup> hace referencia a un aumento de anticuerpos citotóxicos en el suero del huésped durante el período postoperatorio, pero estos resultados fueron obtenidos empleando técnicas de inhibición de formación de rosetas. En nuestras experiencias la evolución de los niveles de anticuerpos heterólogos seguidos por hemaglutinación no sufrió ningún incremento comparado con la evolución en 6 conejos que se inmunizaban a la vez.

Merendino<sup>24</sup> en estudios histológicos de heteroinjertos valvulares confirma la existencia de reacciones inmunes evidenciadas por la infiltración de células plasmáticas y linfocitos en la base del injerto. Sin embargo a pesar de la muerte celular las reacciones inmunes no son lo suficientemente fuertes como para destruir la estructura del injerto animal, seguidos durante 12 meses.

Ante la secuencia de datos obtenidos por nosotros: buen aspecto macroscópico de las válvulas implantadas, falta de respuesta humoral y ausencia persistente de células pironina positivas, decidimos determinar cuál era la base antigénica que condicionaba estas respuestas para lo cual pusimos en marcha la determinación de los análisis antigénicos de las válvulas de los mamíferos que estudiábamos.

### C) *Composición antigénica valvular*

La antigenicidad valvular depende de la mayor o menor inducción de anticuerpos por parte de los elementos que la forman. Los resultados de los trabajos realizados por nosotros con técnicas inmunoelectroforéticas, se resumen en el hallazgo de cuatro componentes séricos en las válvulas de perro y cerdo y tres en las válvulas humanas.

Las proteínas estructurales juegan un papel muy importante en los heteroinjer-

tos valvulares ya que en la mayoría de los experimentos realizados, el endotelio del injerto se desprende mecánicamente. El rechazo subsiguiente se puede interpretar como resultado de la acción de las proteínas estructurales y concretamente del colágeno sobre el huésped con la puesta en marcha de la inmunidad.

Durante mucho tiempo se creyó que el colágeno no era antigénico<sup>31</sup>, hasta que en 1954 Watson<sup>33</sup> demuestra la real inmunogenicidad del colágeno del tendón del rabo de rata y carpa. Rothbar<sup>28</sup> empleando técnicas de fijación de complemento e inmunofluorescencia, analiza el colágeno de rata, ratón, cobaya, carpa y hombre, encontrando reacciones entre ello, lo que indica la existencia de componentes comunes y por tanto, una inespecificidad de especies. Siguiendo la sistemática habitual hemos analizado por reacción cruzada, los homogenizados valvulares de las especies estudiadas por nosotros, encontrando interrelaciones entre los antígenos séricos. Es decir, que existe una base inmunológica o antigénica entre las válvulas de perro y cerdo que de alguna manera explica la carencia de respuesta.

Ante estos hechos, pensamos que en la diferenciación de especies, cada tejido se comporta de una manera peculiar propia desde el punto de vista antigénico y así como en órganos como el hígado es muy diferente de una especie a otra, otros tejidos como las válvulas (pobre en células y rico en fibras de colágeno principalmente) no son tan distintas ya que lo que predomina son las fibras colágenas y el suero que son dos tejidos poco diferenciados.

Por otra parte los antígenos séricos por ser solubles podrían ser eliminados mediante lavados o cultivos de tejido en condiciones determinadas. Recientes trabajos llevados a cabo por Merendino<sup>24</sup> confirman nuestra teoría que en la actualidad está siendo objeto de nuestro estudio.

Según Carpentier<sup>7</sup> los heteroinjertos en comparación con los homoinjertos valvulares proporcionan mayores facilidades prácticas (número, selección, formas). En la actualidad son objeto de numerosas investigaciones histológicas, biológicas y clínicas. La ausencia de

reacción humoral, la escasa infiltración celular específica así como la analogía inmunológica que presentan las válvulas estudiadas hacen presumible el empleo eficaz de estos heterotransplantes frescos en el campo experimental y su viabilidad en la clínica humana.

#### SUMMARY

### Heart and Heart Valve Immunology

Antigenic composition of heart and heart valves of four mammalian species was studied by immunoelectrophoresis. Their antigenic community was established by cross reactions. Experimental heart valve heterotransplants were carried out to determine the immunological rejection. The following results were obtained:

- a) 32 antigens were found in rat heart tissue by immunoelectrophoresis; 11 in dog, 13 in pig, and 12 in human heart.
- b) 5 antigens were found in pig and dog heart valves and 3 in human heart valves.
- c) Cross reactions among heart and heart valve

antigens of the four species were detected using heterologous systems.

d) Antibody titer—as followed by hemagglutination—in the heterotopic heterotransplants did not change.

e) The histological study of the implanted valves showed the persistent absence of pyronine positive cells.

These results point out that there is a coincidence in the heart and heart valve antigenic composition of different species. This similarity strengthens the possibility of using pig heart valves in experimental heterotransplants in dog as well as in humans.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. ALVAREZ-MORENO, S., T. LLEDIAS, J. M. ARCOS y A. CHORDI. *Int. J. Biochemistry*, 1: 612, 1970.
2. BAILEY, G. H. y S. J. RAFFEL. *Am. J. Hygiene*, 33: 86, 1941.
3. BAILEY, G. H. y S. J. RAFFEL. *J. Exper. Med.*, 73: 617, 1941.
4. BARRATT-BOYES, B. G. *Brit. J. Surg.*, 52: 847, 1965.
5. BINET, S. P., S. LANGLOIS, A. CARPENTIER, P. LUCET, S. MERCIER, S. NOUAILLE y G. NOUALT. *Press. Med.*, 76: 5, 1968.
6. CARPENTIER, A., J. CHANARD, J. M. BRIOTET, D. LAURENT y CH. DUBOST. *Press. Med.*, 75: 1603, 1966.
7. CARPENTIER, A., G. LEMAIGRE, L. ROBERT, S. CARPENTIER y CH. DUBOST. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 58: 467, 1969.
8. CARPENTIER, A., S. C. CHANARD, P. LAURENS, J. GUERY, H. HARADA, D. LAURENT y C. DUBOST. *Mem. Acad. Chir.*, 93: 617, 1967.
9. CHORDI, A., T. LLEDIAS, C. ALVAREZ-MORENO y E. ORTIZ DE LANDÁZURI. *Path. europ.*, 4: 209, 1969.
10. DURÁN, C. G., A. S. GUNNING y R. WHITEHEAD. *Tórax*, 22: 510, 1967.
11. DURÁN, C. G., R. WHITEHEAD y A. J. GUNNING. *Tórax*, 24: 142, 1969.
12. DUMONDE, D. C. *Advances in Immunology*, 5: 245, 1966.
13. ESPINOSA, E., I. KUSHNER y M. H. KAPLAN. *Amer. J. Cardiol.*, 24: 508, 1969.
14. ESPINOSA, E. y M. H. KAPLAN. *J. Immunol.*, 5: 1020, 1968.
15. GERY, I. y A. M. DAVIES. *J. Immunol.*, 7: 182, 1964.
16. HALBERT, S. P., S. E. HOLM y A. THOMSON. *J. Exper. Med.*, 127: 613, 1968.
17. HOGEBOOM, G. H. *Methods in Enzymo-*

- logy, I: página 17. New York Academic Press. New York, 1955.
18. KAPLAN, M. H. y J. D. FRENGLEY. *Amer. J. Cardiol.*, 24: 459, 1969.
  19. KAPLAN, M. H. y M. MEYESERIAM. *Lancet.*, 1: 706, 1962.
  20. KAPLAN, M. H. y M. MEYESERIAM. *J. Immunol.*, 88: 450, 1962.
  21. KAGAN y NORMAN. *Amer. J. Trop. Med.*, 10: 727, 1961.
  22. KUSHNER, I. y M. H. KAPLAN. *J. Immunol.*, 99: 256, 1967.
  23. LEWIS, U. P. y J. S. KESEL. *Arch. Ophthalmol.*, 66: 471, 1961.
  24. MERENDINO, K. A. y H. MOHRI. *Cardiov. Surg. current. practice*. Ed. Thomas H. Burford, Thomas B. Ferguson (156-194), 1969.
  25. MURRAY, G. *Angiology*, 7: 466, 1956.
  26. ORTIZ DE LANDÁZURI, M. Tesis Doctoral. Pamplona, 1970.
  27. OSSERMAN, E. F. *J. Immunol.*, 84: 93, 1960.
  28. ROTHBARD, S. y R. F. WATSON. *J. Exp. Med.*, 122: 441, 1965.
  29. SANTAMARÍA, P., CHORDI, A. y E. ORTIZ DE LANDÁZURI. *Path. europ.*, 2: 427, 1967.
  30. SCHEIDEGGER. *Intern. Arch. Allergy.*, 7: 103, 1955.
  31. STARIN, W. A. *J. Infectious Diseases*, 23: 139, 1918.
  32. TORMO, J. Tesis Doctoral. Madrid, 1966.
  33. WATSON, R. F., S. ROTHBARD y P. J. VANAMEE. *J. Exper. Med.*, 99: 535, 1954.