



Facultad de Veterinaria  
**Universidad Zaragoza**



# Trabajo Fin de

Autor/es

Director/es

Facultad de Veterinaria

---

## ÍNDICE.

1. RESUMEN. ....	2
1.1 SUMMARY. ....	2
2. INTRODUCCIÓN. ....	3
2.1 QUÉ ES UNA FÍSTULA ARTERIOVENOSA. ANTECEDENTES. ....	3
2.2 APLICACIONES DE LAS FÍSTULAS ARTERIOVENOSAS. ....	4
2.3 COMPLICACIONES DE UNA FÍSTULA ARTERIOVENOSA. ....	4
2.4 POSIBLES TRATAMIENTOS PARA LA TROMBOSIS. ....	5
2.5. MODELOS ANIMALES DE FÍSTULA ARTERIOVENOSA. ....	6
3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS. ....	7
4. METODOLOGÍA. ....	8
4.1 DESARROLLO DEL PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL. ....	8
4.2 CRITERIOS DE VALORACIÓN DEL MODELO ANIMAL. ....	11
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN. ....	14
5.1 RESULTADOS. ....	14
5.2 DISCUSIÓN. ....	19
6. CONCLUSIONES. ....	22
6.1 CONCLUSSIONS. ....	22
7. VALORACIÓN PERSONAL. ....	23
8. BIBLIOGRAFÍA. ....	24
9. ANEXOS. ....	27
ANEXO 1. FIGURAS. ....	27
ANEXO 2. FÁRMACOS Y MATERIALES USADOS. ....	30
ANEXO 3. SEGUIMIENTO DEL ESTADO CLÍNICO. ....	32
ANEXO 4. DATOS ECOGRÁFICOS. ....	33
10. AGRADECIMIENTOS. ....	34

## **1. RESUMEN.**

Las fistulas arteriovenosas (FAV) se realizan en pacientes humanos que necesitan hemodiálisis para poder acceder al torrente circulatorio de manera repetida. Se obtienen mediante la anastomosis quirúrgica de una arteria y una vena con el objetivo de que la pared venosa se arteriolice por el aumento de presión y permita recibir repetidas punciones sin lesionarse. Sin embargo, las FAV pueden presentar complicaciones, siendo la oclusión la principal de ellas. En caso de producirse hay que tratar mediante angioplastia, no obstante, no siempre se obtienen resultados satisfactorios. Con el propósito de poder estudiar posteriormente distintos dispositivos y procedimientos para llevar a cabo la angioplastia, se debía crear en primer lugar un modelo animal fiable, repetible y similar al humano. Para ello, en este proyecto se han desarrollado tres modelos animales diferentes de fístula arteriovenosa: cerdo, oveja y conejo, a los que se les realizó una fistula carotidoyugular que se mantuvo durante 4 meses. Durante ese tiempo se evaluó la evolución de los animales y de la FAV mediante observación directa, palpación, auscultación, ecografía y angiografía. Finalizado el proceso experimental, se realizó una evaluación de todos los datos recabados y se comparó, mediante un sistema de puntuaciones, a los tres modelos. La conclusión es que el modelo ovino es el que mejores características presenta para continuar investigando.

### **1.1 SUMMARY.**

Arteriovenous fistulae (AVF) are surgically created to access repeatedly to the bloodstream in human patients who need hemodialysis. They are created by surgical anastomosis between an artery and a vein with the objective of vein's arterialization due to pressure increase, allowing receiving several punctures without being harmed. Nevertheless, AVF may present complications, being occlusion the main of them. In case of occlusion, it has to be treated by angioplasty; however, satisfying results aren't always obtained. In order to be able to study it, afterwards, different devices and methods to accomplish angioplasty, a reliable, repetitive and similar to the human animal model has to be created. To this end, in this project three different animal models have been developed; pig, sheep and rabbit, to which a carotid-jugular fistula was kept for 4 months. During that time, FAV and animals' evolution was evaluated through direct observation, palpation, auscultation, ultrasonography and angiography. Once ended the experimental process, a data analysis was done and the 3 models were compared by a scoring system. Conclusion is that the ovine model is the one having the best characteristics for further research.

## 2. INTRODUCCIÓN.

Para llevar a cabo cada sesión de hemodiálisis es necesario crear un acceso venoso. La pared de las venas no permite pinchazos de forma repetida sin lesionarse y, por ese motivo, se crean las fístulas arteriovenosas. Sin embargo, estas fístulas pueden presentar complicaciones que impiden que funcionen correctamente. La principal complicación, después del fallo precoz de la FAV, es la trombosis y obstrucción de la misma. Para tratar esta complicación se utiliza un tratamiento mínimamente invasivo, la angioplastia <sup>(1-4)</sup>. No obstante, es necesario desarrollar estudios para determinar qué tipo de balón funciona mejor e intentar evitar las obstrucciones repetidas. Para tal fin, el primer paso es desarrollar el mejor modelo animal de FAV posible, y es lo que se ha pretendido en este TFG, considerando que el trabajo realizado es un estudio piloto de un estudio posterior a mayor escala.

### 2.1 QUÉ ES UNA FÍSTULA ARTERIOVENOSA. ANTECEDENTES.

Una fístula arteriovenosa es una conexión entre una arteria y una vena creada quirúrgicamente con el propósito de arteriolizar la pared venosa y poder puncionarla repetidamente para las sesiones de hemodiálisis <sup>(5)</sup>.

La primera FAV, desarrollada por Brescia y colaboradores <sup>(6)</sup>, surge en 1966 como una ampliación terapéutica de la hemodiálisis. Cuando la hemodiálisis se implementó por W. J. Kolff en 1944 fue una revolución en el tratamiento de la insuficiencia renal aguda; sin embargo, pese a que con la hemodiálisis teóricamente se podían tratar otras enfermedades renales, en la práctica no se pudo poner en marcha debido a la imposibilidad de acceder repetidas veces al torrente circulatorio sin causar complicaciones. Durante 16 años (1944-1960) <sup>(5)</sup> la hemodiálisis fue una técnica desarrollada en pocos centros médicos, laboriosa, cara, no estandarizada y con un elevado riesgo de infecciones. En 1960 se desarrolló el primer sistema que intentaba reemplazar la técnica tradicional de la hemodiálisis, consistente en la canulación con vías metálicas o de cristal y la ligadura de los vasos después de cada sesión. Así pues, Quinton Dillard y Scribner <sup>(7)</sup> publicaron el primer sistema estandarizado para acceder de forma repetida al torrente circulatorio a través de un Shunt externo de Silastic.

Tan solo 6 años después, la FAV desarrollada por Brescia y colaboradores entre arteria radial y vena cefálica supuso una verdadera revolución que prevalece hasta nuestros días, permitiendo el tratamiento de pacientes que necesitan sesiones de hemodiálisis de manera crónica, con muchas menos complicaciones que el Shunt externo de Silastic y, obviamente, que el procedimiento original <sup>(5)</sup>.

## 2.2 APLICACIONES DE LAS FÍSTULAS ARTERIOVENOSAS.

A lo largo de los años y con el desarrollo paralelo de la ciencia médica se han ido descubriendo nuevos tratamientos frente distintas enfermedades o trastornos que tienen en común la necesidad de acceso al torrente circulatorio de manera muy continuada en el tiempo. Así pues, desde el descubrimiento de las FAV con el objetivo de permitir el desarrollo de la hemodiálisis crónica, se han añadido, progresivamente, diferentes aplicaciones a las FAV, dada su inestimable ventaja de permitir el acceso repetido al torrente circulatorio <sup>(8)</sup>.

Su uso es imprescindible para ciertas enfermedades que requieren transfusiones sanguíneas de forma crónica, como por ejemplo la enfermedad de Von Willebrand o la anemia aplásica. Asimismo, con el descubrimiento de la plasmaféresis (o recambio de plasma) para el tratamiento de diversas enfermedades como la miastenia gravis o el síndrome nefrótico también se hizo necesario el uso de las FAV <sup>(8)</sup>.

Además, las FAV suponen una ventaja muy valiosa para suministrar fármacos por vía intravenosa de manera crónica, entre los que destacan los quimioterápicos, o para casos extremos en los que se necesita nutrición parenteral total a largo plazo <sup>(8)</sup>.

Actualmente, las FAV también se usan con otros objetivos que no incluyan la necesidad de acceder repetidamente al torrente circulatorio. Por ejemplo, se usan para incrementar el flujo sanguíneo en segmentos isquémicos debido a la arteriolización del circuito venoso <sup>(8)</sup>.

## 2.3 COMPLICACIONES DE UNA FÍSTULA ARTERIOVENOSA.

Son muchas las complicaciones que puede ocasionar una FAV en un paciente humano; desde robo arterial, aneurismas arteriales o venosos, hipertensión venosa, infecciones, síndrome del túnel carpiano e incluso fallo cardíaco congestivo. No obstante, el objetivo de este apartado no es revisar las posibles consecuencias que puede tener sobre la salud una FAV; si no revisar las posibles causas de obstrucción de una FAV, ya que la mayor complicación es la pérdida de permeabilidad, puesto que impide que la hemodiálisis (o cualquiera de los tratamientos comentados en el apartado anterior) tenga lugar <sup>(9, 10)</sup>.

Según Barba et al, solo el 75% de los pacientes con una FAV mantienen la permeabilidad de la misma en el plazo de 2 años <sup>(11)</sup>. Las causas de pérdida de permeabilidad se deben a cambios microscópicos de la pared de los vasos sanguíneos tanto aferentes como eferentes a la FAV. Al principio, esos cambios son los que permiten que las paredes venosas adquieran morfología de arteria (arteriolización) y la FAV sea funcional. Sin embargo, con el tiempo, se puede atrofiar el músculo liso de las arterias, así como reducir la cantidad de tejido elástico y aparecer dilataciones y elongaciones aneurismáticas. En cuanto a las venas, la lámina elástica interna

tiende a fragmentarse y desaparecer, y pueden surgir cambios degenerativos e, igualmente, aneurismas (Fig. 1). Además, se puede detectar engrosamiento e irregularidad de la pared debido a la proliferación de la túnica íntima y fibrosis, o las válvulas pueden perder su funcionalidad.

Asimismo, pueden surgir vasos colaterales arteriales y venosos por el aumento de la velocidad de flujo sanguíneo y la presencia de flujo retrógrado en la arteria distal (Fig 1). Esta nueva red colateral también experimenta dilatación y tortuosidad, pudiendo aparecer verdaderas varices (9, 10).

En conclusión, todos estos cambios morfológicos continuados en el tiempo que se dan en todos los pacientes a una mayor o menor velocidad, sumado a determinados factores predisponentes como la hipercolesterolemia (con la subsecuente aparición de placas de ateroma en los vasos cercanos a la FAV o en la misma FAV), los estados de hipercoagulabilidad o la compresión excesiva de la FAV y el cambio de flujo laminar a turbulento que se produce al circular la sangre directamente desde una arteria a una vena predisponen a la trombosis y oclusión de la misma, siendo ésta la complicación más preocupante, ya que la viabilidad de la fístula depende de la rápida resolución de la misma, que ha de tratarse en menos de 48 horas si se quieren tener ciertas garantías de éxito (9, 10, 12-15).

## **2.4 POSIBLES TRATAMIENTOS PARA LA TROMBOSIS.**

La evolución del tratamiento de las trombosis desde que se comenzaron a detectar en los pacientes con FAV ha sido paralela al desarrollo de la ciencia médica. En un primer momento, la trombectomía quirúrgica era la única opción terapéutica; sin embargo, actualmente, la opción terapéutica de elección es el tratamiento percutáneo mediante angioplastia con balón con o sin fármaco, y la colocación de un stent en caso de estenosis repetidas (16).

Antes de comenzar la angioplastia, se debe hacer una angiografía con el objetivo de localizar la zona ocluida y medirla. A continuación, se introduce un catéter con balón en el torrente sanguíneo y se accede a la zona a tratar; no obstante, antes de hinchar el balón, con el objetivo de evitar posibles complicaciones, se anestesia localmente la zona y se administra anticoagulante. Finalmente, cuando se sitúa el balón a nivel de la estenosis, éste se hincha durante un periodo máximo de dos minutos, pudiendo repetir el proceso hasta seis veces si es necesario. Algunos de estos balones están recubiertos por fármacos antiproliferativos, con el objetivo de disminuir la fibrosis y los cambios morfológicos comentados en el apartado anterior. Sin embargo, todavía falta investigación en cuanto a la efectividad de estos fármacos.

(16)

## 2.5. MODELOS ANIMALES DE FÍSTULA ARTERIOVENOSA.

Existen algunos estudios publicados en los que se han empleado modelos animales de FAV.

En un estudio, con el objetivo de reducir las complicaciones de la maduración de las FAV, se utilizó un modelo murino (al que se le había creado una FAV) y se le administró prednisolona liposomal en la zona post-anastomósica (donde es más prevalente la patología vascular en FAV). A nivel histológico se observó una reducción de linfocitos y granulocitos en la pared vascular. Además, se demostró un gran efecto antiinflamatorio *in vitro*. Así pues, el tratamiento con prednisolona liposomal podría ser una estrategia valorable para mejorar la maduración de las FAV evitando complicaciones<sup>(17)</sup>.

En otro estudio dedicado a comprender más profundamente la fisiopatología de los fallos de fístulas arteriovenosas se desarrolló un modelo murino de fallo de fístula arteriovenosa (la cual fue realizada entre yugular externa y carótida común) en el que la estructura de la anastomosis es muy parecida a la que se da en humanos, debido al calibre de los vasos. Pese a la dificultad de técnica quirúrgica debido a las pequeñas dimensiones del animal, con entrenamiento se consiguió estandarizar la técnica y se logró una alta tasa de éxito quirúrgico. Se obtuvieron resultados interesantes a nivel histológico, como por ejemplo la aparición de lesiones estenóticas en el tracto venoso, lo cual también se detecta en las FAV humanas. La ventaja principal de la ventaja del uso del ratón como modelo, aparte de la similitud del calibre de los vasos con los vasos usados en las FAV realizadas en humanos, es la disponibilidad de animales knockout. Eliminando genes que juegan un papel importante en la remodelación vascular podría ayudar a desentrañar la compleja fisiopatología de los fallos de FAV. A pesar de ello, el reducido tamaño del animal impide que se pueda evaluar la eficacia de la angioplastia, al no poder ser realizada<sup>(18)</sup>.

Florescu et al, desarrollaron un modelo de FAV superficial para ovino porque consideraron que los modelos porcinos existentes de vena femoral anastomosada terminolateralmente a la arteria femoral no son válidos (por consistir en una FAV profunda) para estudiar las FAV, porque las FAV usadas en humanos son superficiales. El modelo de oveja usa venas superficiales para crear una FAV casi idéntica a las usadas en humanos. Las FAV creadas en la oveja en este estudio estaban formadas por una sutura terminolateral entre las venas basilicas y la arteria braquial. A las 5 semanas de la cirugía 4 de 6 ovejas habían completado exitosamente el estudio y se desarrollaron las FAV, pese a que los vasos tenían calibres inferiores a los recomendados para humanos. Solo murieron 2 animales por causas sin relación con la cirugía. Este modelo de FAV es anatómicamente casi idéntico al usado en humanos y es

un modelo viable para estudiar la maduración de las FAV, dispositivos para mejorar la maduración de las mismas, tratamientos e incluso nuevas agujas de hemodiálisis <sup>(19)</sup>.

Zheng et al. crearon un modelo de rata estable para el estudio de FAV autógenas con insuficiencia renal crónica. En este caso se hizo una FAV entre carótida y yugular y a los 28 días se valoró la hiperplasia en la yugular mediante tinciones de Hematoxilina-Eosina y la presencia de músculo liso anormal en la vena mediante inmunohistoquímica. El modelo es fácil de poner en marcha y merece la pena ser usado para estudios más amplios de FAV <sup>(20)</sup>.

Varcoe et al en 2015 plantearon otra alternativa que pretendía comparar la respuesta local del tejido y la subsecuente hiperplasia que se desarrolla durante la maduración de una FAV usando un artefacto de nitinol ("U-clip") frente a la tradicional anastomosis creada con sutura continua o interrumpida. Los resultados evidenciaron una reducción de la necrosis tisular local, la proliferación de células y menor hiperplasia en aquellas ovejas con FAV creada con el U-clip frente a aquellas con la intervención tradicional en las 4 primeras semanas <sup>(21)</sup>.

### **3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.**

Aproximadamente, el 25% de las FAV pierden la permeabilidad en el tiempo de 2 años si no se interviene <sup>(11)</sup>. Esto es debido a fenómenos de hiperplasia y remodelación en las venas cuya fisiopatología exacta permanece desconocida, aunque se cree que la respuesta inflamatoria vascular juega un papel importante <sup>(22)</sup>.

Por este motivo es fundamental seguir investigando sobre este tema para encontrar un tratamiento eficaz para esta complicación tan frecuente. Tras la revisión bibliográfica se puede determinar que el estudio de las FAV y sus consecuencias en modelos animales ha sido abordado de una manera un tanto heterogénea, habiendo sido descrito modelos en ratón, cerdo, oveja y conejo. Muchos de estos estudios concluyen con la aseveración de que el modelo animal que han creado es el mejor para implantarlo en futuras investigaciones; sin embargo no hay ninguno que los compare, los valore y determine que modelo animal es más adecuado. Además, el objetivo a largo plazo es poder emplear este modelo animal para evaluar la eficacia de diferentes dispositivos de angioplastia para el tratamiento de la obstrucción. Por este motivo se han comparado fistulas arteriovenosas creadas en tres especies diferentes, para, en posteriores estudios, desarrollar el mejor modelo posible para tratar las complicaciones de las FAV en humanos, entre las que destaca la oclusión de la misma. En ese

caso se desea probar nuevos tratamientos como la angioplastia y comparar diferentes balones recubiertos o no de fármacos antiproliferativos.

Considerando lo anterior, los objetivos del trabajo son los siguientes:

**Objetivo 1:** Desarrollar tres modelos animales de fistula arteriovenosa de las siguientes especies: ovina, porcina y cunícola.

**Objetivo 2:** Comparar las fístulas creadas en las tres especies animales para determinar cuál es el mejor modelo animal de FAV para utilizarlo en estudios posteriores.

## 4. METODOLOGÍA.

### 4.1 DESARROLLO DEL PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

Se ha llevado a cabo un estudio piloto inicial para evaluar el modelo animal de fístula arteriovenosa en tres especies diferentes: conejo (*Oryctolagus cuniculus*), cerdo (*Sus scrofa*) y oveja (*Ovis aries*). Se han utilizado dos conejas de raza Neozelandesa de 5 meses de edad con pesos de 3,7 kg y 4,1 kg, tres cerdas de la raza Large Whyte de 70 días de edad con pesos de 28,5 kg, 26,1 kg y 27,3 kg y dos ovejas de raza Rasa Aragonesa adultas con pesos de 38,5 kg y 32,9 kg. Antes de comenzar el estudio experimental se solicitó y obtuvo la aprobación del procedimiento a la Comisión Ética Asesora para la Experimentación Animal de la Universidad de Zaragoza, con el número PI 47/16. El cronograma de actividades estipulado para el desarrollo del experimento queda reflejado en la Tabla 1.

Tareas	DÍA 0	DÍA 7	DÍA 30	DÍA 60	DÍA 90	DÍA 120	DÍA >120
1- Creación de la fístula arteriovenosa							
2- Seguimiento del estado clínico del animal							
3- Evaluación ecográfica de la fístula							
4- Angiografía							
5- Sacrificio							
6- Obtención de la pieza anatómica							
7- Procesado y análisis histológico de la fístula							
8- Análisis de resultados							

Tabla 1. Cronograma del estudio

Se creó quirúrgicamente una fístula arteriovenosa laterolateral entre arteria carótida común y yugular externa bajo anestesia general en todos los individuos (Fig. 2), salvo en el caso de un cerdo que fue entre carótida común y yugular interna. Además, en el caso de una de las ovejas se crearon dos fístulas en vez de una; la primera de ellas entre carótida común y yugular externa y la segunda de ellas entre la vena basílica y la arteria braquial tal y como describen Florescu et al <sup>(19)</sup> (Fig. 3).

El protocolo anestésico fue diferente en función de la especie (Anexo 2). En todos los casos, previamente se realizó una exploración del animal para detectar posibles patologías que pudieran incrementar el riesgo anestésico e interferir en el resultado. Para premedicar a los animales se empleó:

- Cerdos: zolacepam (0,03 mg/kg), tiletamina (4 mg/kg) (Zoletil® 100 mg, Virbac, España) y xilacina (1,5 mg/kg) (Sedaxylan® 20 mg/ml, Dechra, Países Bajos).
- Ovejas: xilacina (0,2 mg/kg) (Sedaxylan® 20mg/ml, Dechra, Países Bajos) y ketamina (0,11 mg/kg) (Imalgene® 100mg/ml, Merial, España).
- Conejos: dexmedetomidina (0,2 mg/kg) (Dexdomitor® 0,1 mg/ml, Esteve, España) y ketamina (15 mg/kg) (Imalgene® 100 mg/ml, Merial, España).

Todas las especies se indujeron con propofol a dosis efecto y se mantuvieron intubados y con anestesia inhalatoria a base de isoflurano (Isovet®, BBraun, España), ventilados y monitorizados (capnografía, pulsioximetría, electrocardiografía y toma de presión no cruenta mediante oscilometría) durante toda la cirugía (Fig. 4).

El procedimiento quirúrgico se llevó a cabo en condiciones asépticas y con adecuada cobertura antibiótica. Se realizó una fístula arteriovenosa laterolateral en todos los casos. Para ello se incidió la piel (Fig. 5) y se disecaron ambos vasos con delicadeza. Una vez individualizados se colocaron vesseloops® en los extremos proximales y distales interrumpiendo el flujo sanguíneo en ambos vasos (Fig. 6). Se lavó la luz del segmento interrumpido con suero heparinizado utilizando un catéter intravenoso 22 G (Introcan, BBraun®, España) (Fig. 7) y se realizó una incisión longitudinal de la misma extensión en cada uno de los vasos mediante un punto de entrada con bisturí del nº 11 y ampliación del mismo con tijeras de Potts (Figs. 8 y 9). Se suturaron los dos vasos mediante dos suturas continuas con polipropileno, material monofilamento no absorbible (Prolene®, Ethicon, Estados Unidos) de 5/0 de grosor, de doble aguja redonda (Fig. 10). Los dos nudos iniciales se llevaron a cabo en tejido sano, cada uno próximo a cada uno de los vértices de las incisiones, uniendo ambos vasos y dejando en la cara extraluminal el nudo de sutura. La primera sutura continua se llevó a cabo en el lado más desfavorable, desde la zona endoluminal, para terminar sacando la aguja a la cara extraluminal a nivel del vértice contrario

y anudar al hilo de sutura anclado al nudo inicial de ese extremo. A continuación, se llevó a cabo la sutura continua del otro labio de la incisión, terminando de cerrar la fístula. El siguiente paso fue restablecer el flujo sanguíneo aflojando los vesseloops® y comprimir la fístula durante dos minutos en caso de que hubiera fugas (Fig. 2). Para finalizar, se cerró el defecto subcutáneo con puntos simples sueltos y la piel con una sutura intradérmica con gliconato, material absorbible monofilamento (Monosyn®, BBraun, España) de 3/0 de grosor y aguja triangular. Tras la cirugía se despertó a los animales y se les administró adecuada cobertura analgésica y antibiótica postoperatoria (Anexo 2).

El tiempo de supervivencia de los animales fue de cuatro meses y durante todo el tiempo de desarrollo del experimento se llevó a cabo un seguimiento del estado clínico de los animales, anotando cualquier incidencia. Para ello, se elaboró un sistema de valoración del dolor adecuado para cada especie siguiendo las directrices de la Comisión ética asesora para la experimentación animal de la Universidad de Zaragoza (Anexo 3).

Adicionalmente a un chequeo de cada animal cada 30 días, se realizaron visitas diarias a los animales para comprobar su estado de salud y registrar cualquier anomalía.

Los controles ecográficos (Fig. 11) se realizaron previamente a la cirugía y a los 7, 30, 60, 90 y 120 días para evaluar la permeabilidad de la fístula. Mediante ecografía se valoró: diámetro transversal de arteria y de vena tanto a nivel proximal como distal, diámetro transversal de la fístula arteriovenosa, longitud de la fístula arteriovenosa y velocidad del flujo sanguíneo en la fístula. En caso de detectar ausencia de permeabilidad se concluyó el procedimiento en ese sujeto. Las ecografías fueron realizadas por ecografistas pertenecientes al Grupo de Investigación en Técnicas de Mínima Invasión (GITMI).

Además de la ecografía, y en los mismos tiempos que se realizó esta, la permeabilidad de la fístula se valoró mediante palpación (Fig. 12) y auscultación (Fig. 13). El objetivo era percibir el frémito y auscultar el sonido producido por el cambio de flujo laminar a turbulento al circular la sangre desde la arteria a la vena a través de la fístula.

Antes del sacrificio de cada animal, bajo anestesia (según el protocolo detallado en el Anexo 2) y tras la ecografía, se realizó una angiografía utilizando un arco de rayos (Philips BV Endura C arm) para evaluar la permeabilidad de la FAV y obtener el mapa vascular de la zona detectando posibles alteraciones (Figs. 1 y 14). Se colocaron introductores en arteria y en vena femoral mediante punción percutánea ecoguiada y técnica Seldinger. A partir de ese acceso vascular, se avanzó utilizando guía hidrofílica de 0.035 " y 150 cm de largo y diferentes tipos de catéteres (pig tail, cobra C2, MPA) hasta la arteria carótida o la vena yugular, según el

acceso vascular empleado y en ese punto se inyectó contraste (Iohexol omnipaque® 300mg I/ml, Healthcare) para obtener el mapa vascular y evaluar la permeabilidad de la fístula.

Tras realizar la angiografía y con el animal inducido e intubado se procedió a la eutanasia del mismo mediante la administración intravenosa de pentotal sódico (Tiobarbital® 1g , Braun, España).

Se obtuvo la pieza anatómica (Fig. 15) mediante disección delicada de la misma, englobando los segmentos proximales y distales tanto de la arteria carótida como de la vena yugular implicadas. La pieza se fijó en formol al 10%, se talló y se incluyó en parafina para su posterior corte, tinción y valoración.

## **4.2 CRITERIOS DE VALORACIÓN DEL MODELO ANIMAL.**

Con el objetivo de seleccionar el modelo animal más apto para realizar posteriores estudios sobre las FAV se han valorado 6 parámetros en cada especie animal y, en función de su importancia, se les ha otorgado un rango de puntuaciones determinado.

Además, cada uno de los parámetros seleccionados ha sido desglosado en varios subparámetros, asignando parte de la puntuación a cada uno de ellos, realizando, de esta manera, la valoración de la manera más objetiva y detallada posible.

### **1. Evaluación del procedimiento quirúrgico y anestésico. (20 puntos)**

Para la valoración de este parámetro se ha considerado:

- Facilidad de administración de los fármacos para la sedación. De 0 a 2 puntos.
- Facilidad para tomar una vía intravenosa. De 0 a 2 puntos.
- Facilidad de intubación. De 0 a 2 puntos.
- Acceso quirúrgico (Fig. 5): depende del tamaño de las estructuras anatómicas, la profundidad de las mismas en los planos anatómicos, la cantidad de grasa y tejido subcutáneo que rodea a los vasos impidiendo una rápida aproximación y la cantidad de vasos colaterales que hay que ligar para poder manejar correctamente la arteria y la vena. De 0 a 7 puntos.
- Creación de la fístula (Figs. 6- 10): Se ha valorado la facilidad para llevar a cabo la FAV, dependiendo fundamentalmente del calibre de los vasos. De 0 a 7 puntos.

## **2. Evaluación de la ecografía. (16 puntos)**

La ecografía (Fig. 11) es una fuente de información esencial, que permite valorar la permeabilidad de la fístula y posibles complicaciones, además de ser un método directo de evaluar las variaciones en los calibres de arterias y venas aferentes y eferentes a la FAV, así como de la velocidad de flujo. Para la valoración de este parámetro se ha considerado:

- Facilidad de manejo del animal para llevar a cabo ecografía: dependiendo de la especie animal se ha requerido sedación o no para llevar a cabo el estudio ecográfico. De 0 a 3 puntos.
- Viabilidad de toma de imágenes ecográficas: La capacidad para obtener imágenes ecográficas depende de las características de cada especie: profundidad tisular de la FAV, cantidad de grasa y tejido subcutáneo rodeando la FAV, calibre de los vasos sanguíneos y tipo de pelo del animal. De 0 a 13 puntos.

## **3. Evaluación de la palpación y auscultación de la FAV. (12 puntos)**

La palpación y auscultación de la FAV (Figs. 12 y 13) ofrecen información directa y rápida sobre la permeabilidad de la FAV. A través de la palpación se puede percibir el frémito e incluso las dilataciones de los vasos cercanos a la FAV y a través de la auscultación se escucha el flujo turbulento al circular la sangre por la FAV. Para la valoración de estos dos parámetros se ha tenido en cuenta:

- Facilidad para llevar a cabo la palpación: depende del manejo del animal para llevar a cabo la palpación y del tamaño y profundidad de las estructuras. De 0 a 6 puntos.
- Facilidad para llevar a cabo la auscultación: depende del manejo del animal para llevar a cabo la palpación y del tamaño y profundidad de las estructuras. De 0 a 6 puntos.

## **4. Evaluación de la angiografía. (12 puntos)**

Las imágenes obtenidas por fluoroscopia son otra fuente de información que nos permite conocer con más detalle el estado de la FAV y posibles complicaciones (Figs. 1 y 14). En la evaluación de la angiografía se ha tenido en cuenta:

- Facilidad de colocación de acceso vascular. De 0 a 5 puntos
- Facilidad de navegación hasta la FAV. El tamaño y morfología de los vasos sanguíneos juegan un papel fundamental para poder navegar correctamente y obtener las imágenes deseadas. De 0 a 7 puntos.

### **5. Evaluación de la evolución de la FAV y salud del animal. (30 puntos)**

Idealmente, cada animal al final del experimento debe tener la FAV permeable y plena salud, puesto que este modelo animal tiene que ser viable para el comienzo de otros estudios científicos.

Así pues, ambos parámetros se han considerado en conjunto, teniendo en cuenta los datos recabados del seguimiento, la ecografía y la angiografía. Se han recogido las complicaciones que se han detectado durante el estudio y se ha valorado si a los 120 días la FAV permanecía permeable y el animal estaba sano.

- Permeabilidad: La permeabilidad de la FAV puede perderse al trombosarse, estenosarse o rotar sobre sí misma durante la cirugía. Se ha realizado un ratio entre número de FAV permeables a los 120 días y número de FAV realizadas. De 0 a 21 puntos.
- Salud: La salud del animal puede verse perturbada por complicaciones durante la cirugía, efectos secundarios del estrés debido al manejo del animal, accidentes o enfermedades. Asimismo, la correcta permeabilidad de la FAV durante un tiempo determinado puede afectar a la salud del animal, debido al aumento de la presión intracraneal. No se han tenido en cuenta los problemas no relacionados con la FAV. De 0 a 9 puntos.

### **6. Evaluación de los costes. (10 puntos)**

Se han tenido en cuenta los costes que, pensando en un experimento mayor, pueden influir en la selección de la especie. Se han valorado:

- Precio de adquisición y transporte de los animales desde los puntos de origen a las instalaciones. De 0 a 2 puntos.
- Coste de mantenimiento. De 0 a 4 puntos.
- Coste de fármacos empleados en la anestesia de cada paciente. De 0 a 2 puntos.
- Coste de material empleado en la angiografía: introductor, guías, catéteres y contraste. De 0 a 2 puntos.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

### 5.1 RESULTADOS.

Se presenta a continuación la puntuación obtenida por cada especie animal, en función del criterio descrito en la metodología. Así pues, la especie con mayor puntuación es la considerada más apta para seguir investigando. El resumen de los resultados se presenta en la Tabla 2.

#### 1. Resultados de la evaluación del procedimiento quirúrgico y anestésico.

- Facilidad de administración de los fármacos para la sedación. Se otorga una puntuación de 2 puntos al modelo ovino (MO) dada la docilidad de la especie, 0,5 al modelo porcino (MP) debido su carácter nervioso y tamaño de difícil manejo y 1,5 al modelo cunícola (MC) porque, aunque también son animales inquietos el tamaño facilita su manejo.
- Facilidad para tomar una vía intravenosa. Se otorga una puntuación de 1 al MO debido a la fácil localización de la vena cefálica por su tamaño y escasa cantidad de tejido graso subcutáneo, aunque se trata de vasos con gran movilidad, lo que dificulta su sujeción. Al MP se ha otorgado 1,5 puntos debido a la fácil localización de la vena auricular y su calibre adecuado para ser puncionado y 0,5 al MC ya que a pesar de visualizarse fácilmente, el reducido calibre de la vena auricular dificulta la colocación de la vía.
- Facilidad de intubación. El MO dada su reducida abertura de la boca y la profundidad del hocico obtuvo una puntuación de 1. El MP obtuvo una puntuación de 1,5 debido a que pese a que es complicado visualizar la laringe por la longitud del paladar largo, la intubación es más sencilla que la de las otras dos especies valoradas. El MC obtuvo una puntuación de 0,5 por la gran dificultad de la maniobra. Presentan una abertura bucal pequeña, hocico profundo, lengua prominente y grandes incisivos, además de ser frecuentes los espasmos de glotis y la apnea durante esta maniobra<sup>(23)</sup>.
- Acceso quirúrgico (Fig. 5). El MO obtiene una puntuación de 6 por la escasa cantidad de grasa presente en la zona, la fácil identificación de estructuras y la escasa profundidad de los vasos en el plano. El MP obtiene una puntuación de 4 por la mayor cantidad de grasa, la difícil identificación de estructuras y una mayor profundidad de los vasos dentro del tejido. El MC recibe una puntuación de 3 debido al reducido tamaño de las estructuras, la dificultad de reconocimiento de las mismas y la gran cantidad de vasos colaterales.

- Creación de la fístula (Figs. 6-10): El MO y MP obtienen una puntuación de 6 puntos por el gran calibre de los vasos utilizados en la FAV y el MC obtiene una puntuación de 4 puntos debido a la mayor dificultad de la técnica por el menor calibre de los vasos.

La puntuación total obtenida en este apartado es 16 en el MO, 13,5 en el MP y 9,5 en el MC.

## **2. Resultados de la evaluación de la ecografía.**

- Facilidad de manejo del animal para llevar a cabo ecografía. Al MO se le han otorgado 3 puntos debido a la ausencia de necesidad de sedación y a los MP y MC se les ha concedido 0 puntos debido a la necesidad de sedación para realizar la técnica.
- Viabilidad de toma de imágenes ecográficas. Se concede una puntuación al MO de 12 puntos por la presencia superficial de la FAV, la escasa cantidad de grasa y tejido subcutáneo rodeando a la misma y el gran calibre de los vasos, todo lo cual facilita mucho la toma de imágenes ecográficas. Al MP se le concede una puntuación de 9 debido a la mayor profundidad de la FAV en el tejido y mayor cantidad de grasa y tejido subcutáneo rodeando a la misma (Fig. 11) y al MC se le da una puntuación de 0 debido al escaso calibre de los vasos y la fácil confusión con el tejido blando que rodea la FAV. Además el tipo de pelo del conejo hace muy difícil un correcto rasurado que permita la obtención de imágenes ecográficas, siendo inviable el uso de la ecografía para valorar la permeabilidad y complicaciones.

La puntuación total obtenida en este apartado es 15 en el MO, 12 en el MP y 0 en el MC. Los datos ecográficos de los que se dispone no son todos los que se habían previsto antes de la realización del experimento debido a los siguientes factores: FAV no valorable ecográficamente por su pequeño tamaño, tipo de pelo del animal, FAV no permeable, manejo del animal impedido por enfermedad y muerte. Así pues, se reflejan exclusivamente los resultados de los óvidos 1 y 2 (O1 y O2) y del cerdo 2 (P2) (Anexo 4).

## **3. Resultados de la evaluación de la palpación y auscultación de la FAV.**

- Facilidad para llevar a cabo la palpación (Fig. 12). Al MO se le concede una puntuación de 6 debido a la docilidad de la especie, la gran superficialidad de la FAV y el gran tamaño de los vasos sanguíneos. Al MP se le da una puntuación de 3 puntos debido a la necesidad de sedación para realizar la técnica y la mayor profundidad de la FAV en los tejidos y al MC se le otorgan 0 puntos debido a la impercepción del frémito en ningún caso por el reducido calibre de los vasos.

- Facilidad para llevar a cabo la auscultación (Fig. 13). Al MO se le concede una puntuación de 6 debido a la docilidad de la especie, la gran superficialidad de la FAV, el gran tamaño de los vasos sanguíneos y la buena calidad del sonido al auscultar la zona. Al MP se le da una puntuación de 3 puntos debido a la necesidad de sedación para realizar la técnica, la mayor profundidad de la FAV y el menor volumen de sonido al auscultar la FAV. Al MC se le otorgan 0 puntos debido a la impercepción de la auscultación del flujo en la FAV en ningún caso.

La puntuación total obtenida en este apartado es 12 en el MO, 6 en el MP y 0 en el MC.

#### **4. Resultados de la evaluación de la angiografía.**

- Facilidad de colocación del acceso vascular. Se otorga una puntuación de 5 al MO debido a la escasa cantidad de tejido graso subcutáneo, la presencia superficial de los vasos y el gran calibre de los mismos. Estas características permiten localizar la arteria femoral mediante palpación y colocar el introductor de forma percutánea sin necesidad de ecografía. Al MP se le dan 4 puntos por su mayor profundidad de vasos en los tejidos y mayor cantidad de tejido graso subcutáneo, pese al gran calibre de los vasos. De esta forma, la colocación del introductor se puede llevar a cabo de manera percutánea pero debe estar guiado mediante ecografía. Al MC se le concede una puntuación de 3 puntos debido a que por su reducido tamaño y la dificultad de obtener imágenes ecográficas, es necesario realizar disección de los vasos para colocar el introductor.
- Facilidad de navegación hasta la FAV. Se le da una puntuación de 6 al MO y al MP debido al considerable calibre de sus vasos que permite una fácil navegación y una puntuación de 4 al MC por su menor calibre de vasos y mayor dificultad para acceder a la FAV.

La puntuación total obtenida en este apartado es 11 en el MO, 10 en el MP y 7 en el MC.

#### **5. Resultados de la evaluación de la evolución de la FAV y salud del animal.**

- Permeabilidad: Se realizaron 3 FAV en 2 ovejas y una de ellas, la realizada entre vena basílica y arteria braquial perdió la permeabilidad a las 24 horas debido a trombosis por el reducido tamaño (Fig. 3). Esta localización a pesar de estar descrita por Florescu et al <sup>(19)</sup> se desechó tras realizar la cirugía por el reducido tamaño de los vasos, por lo que para la puntuación, sólo se tuvieron en cuenta las FAV realizadas entre yugular y carótida y, por tanto, se le concede al MO 21 puntos. De las tres FAV

que se realizaron en cerdos, una perdió la permeabilidad a las 24 horas después de la operación debido a que la arteria carótida rotó sobre sí misma al colocar los Vesseloops® durante la cirugía y, al realizar la sutura de la FAV con la arteria carótida rotada, ésta quedó estenosada. Otra FAV perdió la permeabilidad a los 42 días debido a que se trombosó. Por lo tanto al MP se le otorga una puntuación de 7. Las dos FAV en el MC mantuvieron su permeabilidad al día 120, por eso al MC se le dan 21 puntos.

- Salud: Las 2 ovejas y las 2 conejas mantuvieron la salud hasta el final del experimento, por lo que la puntuación es de 9 puntos para el MO y el MC. En cuanto al MP, todos los animales tuvieron algún problema de salud durante el experimento y ninguno consiguió llegar a los 120 días de experimento. El primer cerdo se eutanasió a día 1 debido a la pérdida de la permeabilidad ocasionada por la rotación de la arteria durante la cirugía. El segundo animal tuvo que ser eutanasiado a día 90 debido a problemas ajenos a la creación de la fístula, aunque en ese momento la fístula permanecía permeable. El último de los animales se sacrificó a los 45 días iniciados el experimento debido a pérdida de permeabilidad de la FAV por trombosis. Por lo tanto, el MP obtiene una puntuación de 3.

La puntuación total obtenida en este apartado es 30 en el MO, 10 en el MP y 30 en el MC.

#### **6. Resultados de la evaluación de costes.**

- Precio de adquisición y transporte de los animales desde los puntos de origen a las instalaciones. El coste del MO y MP es significativamente más caro que el MC. Por eso se conceden 0,5 puntos al MO y al MP y 2 puntos al MC.
- Coste de mantenimiento. Este coste es mayor en el MP, por lo que se otorgan 1 punto. Al MO se le concede 1,5 puntos y al MC 4 puntos.
- Coste de fármacos empleados en la anestesia de cada paciente. Debido al coste de los fármacos y al volumen empleado de cada uno de ellos en función del peso de los animales, los costes fueron mayores en el MP debido al peso y a la necesidad de sedación para cualquier manejo del animal, a continuación en el MO y finalmente el menor precio en el MC. Por eso, se conceden, en el mismo orden, 0,5, 1 y 2 puntos.
- Coste de material empleado en la angiografía: Los introductores, catéteres y guías empleados en el MP y MO fueron los mismos. Sin embargo, en el MC se empleó un set de micropunción para poder colocar el introductor al conejo, que incrementa el coste. La puntuación fue la siguiente: 1,5 puntos para el MC y 2 puntos para el MP y el MO.

La puntuación total obtenida en este apartado es 5 en el MO, 4 en el MP y 9,5 en el MC.

COMPARACIÓN DE DIFERENTES MODELOS ANIMALES DE FÍSTULA ARTERIOVENOSA.		MODELO OVINO	MODELO PORCINO	MODELO CUNÍCOLA
<b>Procedimiento quirúrgico y anestésico.</b>	Facilidad de administración de los fármacos para la sedación (2 puntos).	2	0,5	1,5
	Facilidad para tomar una vía intravenosa (2 puntos).	1	1,5	0,5
	Facilidad de intubación (2 puntos).	1	1,5	0,5
	Acceso quirúrgico (7 puntos).	6	4	3
	Creación de la fístula (7 puntos).	6	6	4
<b>Ecografía.</b>	Facilidad de manejo del animal para llevar a cabo ecografía (3 puntos).	3	0	0
	Viabilidad de toma de imágenes ecográficas (13 puntos).	12	9	0
<b>Palpación y auscultación de la FAV.</b>	Facilidad para llevar a cabo la palpación (6 puntos).	6	3	0
	Facilidad para llevar a cabo la auscultación (6 puntos).	6	3	0
<b>Angiografía.</b>	Facilidad de colocación del acceso vascular (5 puntos).	5	4	3
	Facilidad de navegación hasta la FAV (7 puntos).	6	6	4
<b>Evolución de la FAV y salud del animal.</b>	Permeabilidad (21 puntos).	21	7	21
	Salud (9 puntos).	9	3	9
<b>Costes.</b>	Precio de adquisición y transporte de los animales desde los puntos de origen a las instalaciones (2 puntos).	0,5	0,5	2
	Coste de mantenimiento (4 puntos).	1,5	1	4
	Coste de fármacos empleados en la anestesia de cada paciente (2 puntos).	1	0,5	2
	Coste de material empleado en la angiografía (2 puntos).	2	2	1,5
<b>Puntuación (sobre el total de 100 puntos).</b>		<b>89 Puntos</b>	<b>52,5 puntos</b>	<b>56 puntos</b>

Tabla 2: Resumen de las puntuaciones de cada modelo animal con respecto a cada parámetro

Así pues, analizados todos los datos, el modelo ovino se presenta como el mejor candidato de los tres modelos considerados al haber obtenido 89 puntos sobre 100. Las principales características que hacen de este modelo mejor que los otros dos son su docilidad en el manejo, facilidad a la hora de acceder a la zona quirúrgica y realizar la técnica quirúrgica, comodidad de obtención de datos sobre el estado de la FAV a través de ecografía, palpación, auscultación y angiografía, viabilidad de la FAV en el tiempo sin afectar a la salud del animal y el no muy elevado coste de obtención y mantenimiento de los animales.

## 5.2 DISCUSIÓN.

El modelo murino de fallo de fístula arteriovenosa desarrollado por Wong et al (18) puede presentar la ventaja de menores costes y de la existencia de ratones knockout para investigar la injerencia de los genes en la fisiopatología de la maduración de las FAV, sin embargo, el reducido tamaño del animal impide que se pueda evaluar la eficacia de la angioplastia, al no poder ser realizada. En este sentido, nuestro modelo ovino presenta la ventaja de poder continuar investigando sobre nuevos dispositivos de angioplastia y el uso o no de fármacos antiproliferativos. Asimismo, el modelo de rata desarrollado por Zheng et al. <sup>(20)</sup> presenta ambas deficiencias: calibre de vasos insuficiente para investigar sobre angioplastia e imposibilidad de utilizar animales knockout.

Los resultados de la fístula creada entre la vena basilica y la arteria braquial en uno de los animales de la especie ovina no fueron los mismos que los publicados por Florescu et al (19) (Fig. 3). En nuestro caso, se instauró una espasmolización que derivó en una trombosis en la FAV que no permitía el paso del flujo sanguíneo por lo que la fístula no fue permeable en ningún momento. El fallo temprano de la FAV podría estar asociado al menor calibre de los vasos sanguíneos integrantes de la misma <sup>(24)</sup>. Según sus propios autores, el calibre de estos vasos es inferior al calibre de los vasos empleados en las FAV humanas.

La presencia de estudios histológicos desarrollados en modelos ovinos, como el realizado por Varcoe et al <sup>(21)</sup>, indica, a priori, que el modelo ovino es buen candidato para estudiar en profundidad la histopatología de la maduración de las FAV, así como los efectos de fármacos antiproliferativos sobre la hiperplasia. En esta línea, los resultados histológicos de las muestras tomadas en nuestra investigación aportarán más información sobre la idoneidad o no del modelo ovino para la continuación de estas investigaciones.

En uno de los cerdos, a los 7 días de la creación de la fístula arteriovenosa, se detectó la presencia de dilatación en varias venas superficiales del cuello. El día 25 tras la cirugía se detectó exoftalmos y quemosis en el ojo ipsilateral a la fístula (Figs. 16 y 17), a lo que hay que sumar una dilatación más marcada de las venas superficiales del cuello (Fig. 18). Yang et al en 2015<sup>(25)</sup> crearon un modelo murino de hipertensión cerebral a través de la anastomosis de la arteria carótida común y la vena yugular externa. Se demostró que pasada la cirugía la presión venosa tomada a nivel del seno venoso cerebral aumentaba hasta un máximo (que en el caso del ratón era la semana dos) y luego disminuía progresivamente hasta alcanzar los niveles normales de presión. Se confirmó, por tanto, que una anastomosis entre arteria carótida y vena yugular aumenta la presión venosa cerebral durante un determinado tiempo. Además, el aumento de la presión venosa del seno cerebral se veía correspondido con exoftalmía ipsilateral a la anastomosis creada<sup>(25)</sup>. En el caso de nuestro cerdo, ante la sospecha de que sucedía lo mismo, 35 días después de la creación de la fístula se decidió realizar una venografía de la zona afectada para buscar el origen del exoftalmos y la quemosis, y se comprobó que debido al flujo directo desde la carótida común a la yugular externa había una hipertensión en el seno cavernoso del ojo derecho, responsable de los síntomas. Así mismo, 15 días después de la venografía el exoftalmos y la quemosis comenzaron a remitir, igual que en el caso de Yang et al<sup>(25)</sup>. En la Fig. 14 se destaca como, pese a haber desaparecido los síntomas, sigue existiendo hipertensión venosa. El hecho de la desaparición de los síntomas pese al mantenimiento de la hipertensión puede deberse a la capacidad del sistema venoso cerebral de adaptarse al aumento de la presión, tal y como describen Anile et al<sup>(26)</sup>. En cuanto a las varices en el cuello, lo más probable es que se deban al aumento de la presión sanguínea en la vena distal y al flujo retrogrado, lo que produce insuficiencia valvular venosa, tal y como describen Stradness et al<sup>(27)</sup>. A raíz de este hallazgo inesperado se pensó en este modelo para reproducir un modelo animal de hipertensión cerebral, dadas las incógnitas que presenta la fisiopatología de multitud de enfermedades relacionadas, como el traumatismo craneoencefálico<sup>(28)</sup>. En este sentido, Ferreira et al<sup>(29)</sup> ya han desarrollado un modelo animal de presión intracraneal a través del llenado de un balón intracraneal. Nuestro modelo, si funcionase correctamente, supondría la ventaja de no tener que acceder a la cavidad craneana a través de trepanaciones. En todo caso, este fue solo un hallazgo accidental y habría que profundizar en este aspecto.

En cuanto a las mediciones ecográficas, mientras que tanto en O1 como en O2 hay un incremento del calibre entre la primera y última medida de la vena distal de 1,38 cm en O1 y 1,9 cm en O2 (Anexo 4, gráfico 1) y proximal de 2,14 cm en O1 y 1,96 cm (Anexo 4, gráfico 2),

así como de la arteria proximal (0,49 cm en O1 y 0,26cm en O2) y distal ( 0,19 cm en O1 y 0,33 cm en O2) y del diámetro de la FAV de 0,27 cm en O1 y de 0,34 en O2, es paradójico lo que sucede con la velocidad de flujo. En O1, hay un incremento de 95 cm/s desde la primera medición a la última, lo cual, tal y como describen Tavigne et al <sup>(30)</sup> es lo usual dada la correlación que hay entre el aumento de calibre de la FAV y el aumento de la velocidad de flujo, sin embargo, en O2 hay una disminución de 34,33 cm/s. Este hecho puede ser debido a que mientras en O1 la longitud de la FAV aumenta en 0,21 cm, en O2 la longitud de la FAV disminuye 0, 23 cm. Fenómenos de hiperplasia y remodelación <sup>(31, 32)</sup> podrían explicar una disminución de la longitud de la FAV, dificultando por tanto el paso de la sangre en la O2. Otra teoría plausible sería la aparición de una red colateral, tal y como describen Stradness et al <sup>(27)</sup>, lo que derivaría parte del flujo sanguíneo desde la arteria proximal hacia la red colateral (Fig. 1), disminuyendo por tanto el flujo de la sangre por la FAV. (Anexo 4, Tabla 3). En cuanto a P2 también hay una disminución de velocidad de flujo considerando la primera y la última medidas ecográficas (de 42 cm/s) correlacionada con una disminución longitudinal de la FAV (de 0,08cm) y de los calibres de la arteria proximal (de 0,24cm) y distal (de 0,05 cm). Sin embargo, hay un claro aumento del calibre de las venas proximal (de 0,67 cm) y distal (de 1,20cm), y el calibre de la FAV no muestra cambios. En este caso parece más lógico pensar que una disminución en el calibre de la arteria proximal por cambios morfológicos <sup>(31, 32)</sup> haya producido la disminución de la velocidad de flujo (Anexo 4).

## 6. CONCLUSIONES.

Tras la revisión bibliográfica, el desarrollo del experimento y el análisis de los resultados se ha llegado a las siguientes conclusiones:

- De las 3 especies animales valoradas, la oveja es la que mejor se adapta a las características requeridas para ser modelo de FAV.
- El modelo porcino presenta una serie de deficiencias, como son una necesidad de sedación para realizar cualquier manejo, menor capacidad de obtención de información sobre el estado de la FAV mediante auscultación, palpación, ecografía y angiografía, mayor número de complicaciones postquirúrgicas y mayores costes.
- El modelo cunícola, a su vez, comparado con el modelo ovino presenta una mayor dificultad a la hora de realizar la técnica quirúrgica, la imposibilidad de obtener información sobre el estado de la FAV hasta la muerte del animal y la necesidad de sedación para determinadas actuaciones.
- La FAV entre arteria carótida y yugular externa es la más adecuada para ser estandarizada debido al menor número de complicaciones y a la facilidad de realización de la técnica quirúrgica.
- La FAV entre arteria braquial y vena basilíca en el modelo ovino, pese a ser más parecida a la FAV utilizada en hemodiálisis en la especie humana, presenta mayor dificultad de técnica quirúrgica y mayor riesgo de obstrucción, que la hacen, peor candidata para seguir investigando que la FAV carótido-yugular.

### 6.1 CONCLUSIONS.

After the literature review, the development of the experiment and the data analysis there has been achieved the following conclusions:

- Considering the 3 animal species assessed, the sheep is the one who fits best to the required characteristics to be AVF model.
- Porcine model presents a series of shortcomings, as it is the need of sedation for carrying out any handling, less capacity of obtaining information about AVF through auscultation, palpation, ultrasonography and angiography, a higher number of postoperative complications and higher costs.

- Rabbit model, likewise, compared with ovine model presents a higher difficulty of surgical technique execution, inability in obtaining AVF status information until animal's dead and the necessity of sedation for some actuations.
- AVF between carotid artery and jugular vein is the anastomosis more suitable to be standardised due to the less number of complications and the ease of surgical technique execution.
- AVF between brachial artery and basilic vein in the ovine model, despite being more similar than the AVF used in human species for hemodialysis, presents more difficulties of surgical technique and higher obstruction risk, which makes it a worse candidate than the carotid-jugular fistula for further research.

## **7. VALORACIÓN PERSONAL.**

La realización de un trabajo experimental de cirugía viene motivada por mi interés en la investigación y mi firme creencia en la experimentación animal como ayuda inestimable para el avance científico.

Este estudio piloto ha supuesto un primer paso en una investigación mucho mayor cuyo objetivo final es el de aumentar las probabilidades de éxito a la hora de abordar complicaciones de las fistulas arteriovenosas de los pacientes humanos sometidos a diálisis.

A nivel personal, el hecho de haber contribuido a tal fin me ha permitido aprender a realizar una revisión bibliográfica de manera adecuada, a programar un estudio experimental y todo lo que conlleva la organización del mismo, a realizar cirugía experimental y aprender más sobre ecografía e histología y descubrir el mundo de la radiografía intervencionista.

Además, he aprendido a ser más organizado, ya que durante la realización del proceso experimental, e incluso antes, he tenido la responsabilidad de anotar cualquier suceso y establecer y cumplir el cronograma con la mayor fidelidad posible.

En definitiva, este TFG me ha permitido tener el primer contacto con la investigación y con la creación de modelos animales para recrear patologías humanas y me ha aportado conocimientos muy valiosos que hacen que finalice la carrera con satisfacción por todo lo aprendido y con la sensación de estar muy bien preparado para cualquier cosa que me depara el futuro.

## 8. BIBLIOGRAFÍA.

1. Kumbar L. Complications of Arteriovenous Fistulae: Beyond Venous Stenosis. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2012 May; 19(3): 195-201.
2. Kane Y, Cisse MM, Gaye M, Seck SM, Lemrabott AT, Ba S, et al. Problematic of Vascular Access for Hemodialysis in Sub-Saharan Africa: Experience of Dakar. *J Nephrol Ther.* 2015; 5: 216.
3. Kinnaert P, Vereerstraeten P, Toussaint C, Van Geertruyden J. Nine years' experience with internal arteriovenous fistulas for haemodialysis: A study of some factors influencing the results. *Br J Surg.* 1977; 64: 242-246.
4. Sukhanov VA, Nazarov AV, Zlokazov VB, Chuzhinov SV. The use of thrombolytic preparations for the functional restoration of the arteriovenous fistula in patients on programmed hemodialysis. *Ter Arkh.* 1989; 61(12): 89-91.
5. Craham WB. Historical aspects of hemodialysis. *Transplant Proc.* 1977; 9: 1.
6. Brescia MJ, Cimino JE, Appel K, et al. Chronic hemodialysis using venipuncture and surgically created arteriovenous fistula. *N. Engl. J. Med.* 1966; 275: 1089.
7. Quinton WE, Dillard D, Scribner BH. Cannulation of blood vessels for prolonged hemodialysis. *Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs.* 1960; 6:104.
8. Aguiló J, Galleguillos I, Rodríguez O. Accesos vasculares para hemodiálisis: experiencia con PTFE. *Rev. Chilena de Cirugía.* 1992; 44: 451-454.
9. Gothlin J, Lindsedt E. Angiographic features of Cimino-Brescia fistulas. *A.J.R.* 1975; 125: 582.
10. Stehbens WE. Blood vessel changes in chronic experimental arteriovenous fistulas. *Surg. Gynecol. Obstet.* 1968; 127: 327.
11. Barba Vélez A, Ocaran Corcuera J, Estallo Laliena L, Vega de Céniga M, de la Fuente Sánchez N, Gómez Vivanco R, et al. Accesos vasculares para hemodiálisis. *J. Dialis.* 2006; 27(3): 79-85.
12. Campos RP, Do Nascimento MM, Chula DC, Do Nascimento DE, Riella MC. Stenosis in hemodialysis arteriovenous fistula: Evaluation and treatment. *Hemodial. Int.* 2006; 10:152-161.
13. Sands JJ. Vascular access monitoring improves outcomes. *Blood Purif.* 2005; 23: 45-49.

- 14.** Tessitore N, Bedogna V, Poli A, Mantovani W, Lipari G, Baggio E, et al. Adding access blood flow surveillance to clinical monitoring reduces thrombosis rates and costs, and improves fistula patency in the short term: A controlled cohort study. *Nephrol Dial Transplant.* 2008; 23: 3578–3584.
- 15.** Besarab A, Sullivan KL, Ross RP, Moritz MJ. Utility of intra-access pressure monitoring in detecting and correcting venous outlet stenoses prior to thrombosis. *Kidney Int.* 1995; 47: 1364-1373.
- 16.** Motellón JL, Muñoz de Bustillo E, Barril G, Tagarro D, Sánchez Tomero JA, Bernis C, et al. Utilidad de la angioplastia transluminal percutánea en el tratamiento de las estenosis de las fístulas arteriovenosas para hemodiálisis. *Rev Soc Esp Enferm Nefrol.* 1996; 16(1): 54-60.
- 17.** Wong CY, Bezhaeva T, Rothuizen TC, Metselaar JM, de Vries MR, Verbeek FPR, et al. Liposomal prednisolone inhibits vascular inflammation and enhances venous outward remodeling in a murine arteriovenous fistula model. *Sci Rep.* 2016 July; 6: 30439.
- 18.** Wong CY, de Vries MR, Wang Y, van der Vorst JR, Vahrmeijer AL, van Zonneveld AJ, et al. A Novel Murine Model of Arteriovenous Fistula Failure: The Surgical Procedure in Detail. *J Vis Exp.* 2016 Feb 3; (108): 53294.
- 19.** Florescu MC, Foster KW, Sacks AR, Lof J, Stolze EA, Fry GM, et al. Sheep Model of Hemodialysis Arteriovenous Fistula Using Superficial Veins. 2015 Nov-Dec; 28(6): 687-691.
- 20.** Zheng C, Zhou Y, Huang C, Zhang Z, Liu Y, Xu Y. Establishment of a rat autogenous arteriovenous fistula model following 5/6 nephrectomy. *Exp Ther Med.* 2015 July; 10(1): 219-224.
- 21.** Varcoe RL, Teo AB, Pelletier MH, Yu Y, Yang JL, Crowe PJ, et al. A nitinol "U-Clip" versus sutured arteriovenous anastomosis: local tissue response and intimal hyperplasia development in a sheep model. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2015 Mar; 49(3): 344-52.
- 22.** Al-Jaishi AA, Oliver MJ, Thomas SM, Lok CE, Zhang JC, Garg AX, et al. Patency rates of the arteriovenous fistula for hemodialysis: a systematic review and meta-analysis. *Am. J. Kidney Dis.* 2014 Mar; 63(3): 464-78.
- 23.** Murdock HR. Anaesthesia in the rabbit. *Fed Proc.* 1969; 28: 1510-1516.

- 24.** Wong V, Ward R, Taylor J, Selvakumar S, How TV, Bakran A. Factors associated with early failure of arteriovenous fistulae for haemodialysis access. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 1996; 12(2): 207-13.
- 25.** Yang ST, Rodríguez- Hernández A, Walker EJ, Young WL, Su H, Lawton MT. Adult mouse venous hypertension model: Common carotid artery to external jugular vein anastomosis. *J Vis Exp.* 2015; (95): 50472.
- 26.** Anile C, De Bonis P, Fernández E, Ficola A, Petrella G, Santini P, et al. Blood flow velocities during experimental intracranial hypertension in pigs. *Neurol Res.* 2012; 34(9): 859-863.
- 27.** Stradness DE, Summer DS. Arteriovenous fistulas. En: *Hemodynamics for surgeons.* NewYork: Grune and Stratton; 1975. p. 621-663.
- 28.** Fernández López A, Palomeque Rico A, Cambra Lasasosa FJ, Ortega Rodríguez J, Caritg Bosch J, Martín Rodrigo JM. Severe head injury among children: computerised tomography evaluation and intracranial pressure monitoring as prognostic factors. *Med Intensiva.* 2001; 25(1): 8-13.
- 29.** Ferreira de Andrade A, Schmidt Soares M, Cartaxo Patriota G, Rodrigo Belon A, Silva Paiva W, Bor-Seng-Shu E, de Lima Oliveira M, et al. Modelo Experimental de Hipertensão Intracraniana com monitorização multiparamétrica contínua em suínos. *Arq Neuropsiquiatr.* 2013 Mayo; 71(10): 802-806.
- 30.** Tavigne KB, Mesinna LM, Golding MR, et al. Fistula size and hemodynamic events within and about canine femoral arteriovenous fistulas. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1977; 74: 551.
- 31.** Termed-Rodríguez F, Mounton A. Salvage of immature forearm fistulas for hemodialysis by interventional radiology. *Nephrol. Dial. And Transplant.* 2002; 16: 2365-71.
- 32.** Tardois JH, Heneveled H, Elkelboon BC, Kitslaar PJ. The correlation between clinical and duplex ultrasound parameters and the development of complications in arteriovenous fistulas for hemodialysis. *Eur J Vasc Surg.* 1990; 4: 179-84.

## 9. ANEXOS

### ANEXO 1. FIGURAS.



Figura 2. Anastomosis terminada entre vena yugular y arteria carótida en ejemplar ovino nº 1.



Figura 3. Anastomosis terminada entre vena basilica y arteria braquial en ejemplar ovino nº 1.



Figura 4. Monitorización: ejemplar cunícola.

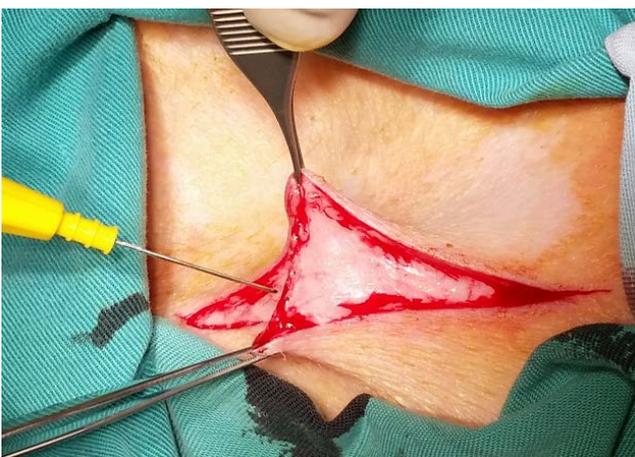


Figura 5. Acceso inicial en el cuello de ejemplar porcino. Cauterización de vaso sangrante mediante electrobisturí.

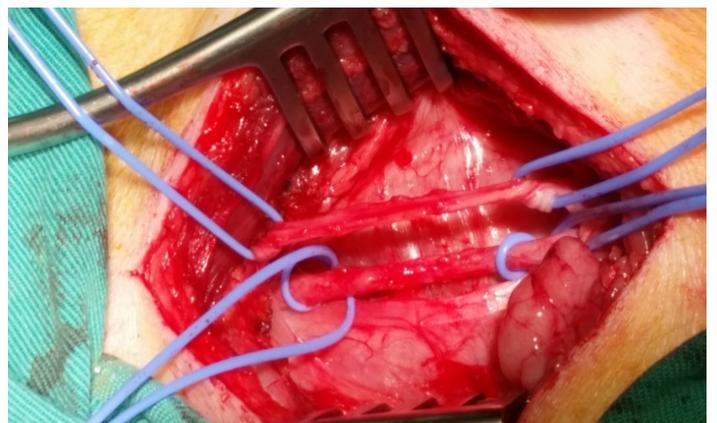


Figura 6. Aproximación de arteria carótida y vena yugular. Colocación de vesseloops® en ejemplar porcino.

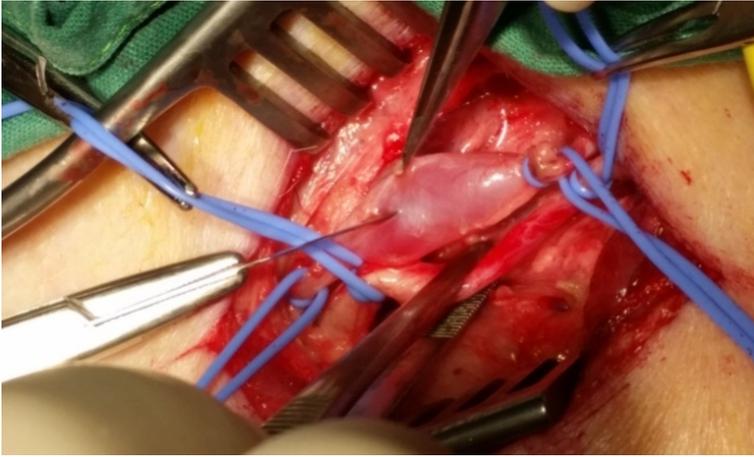


Figura 7. Introducción de suero heparinizado en vena yugular previamente exanguinizada en ejemplar porcino.

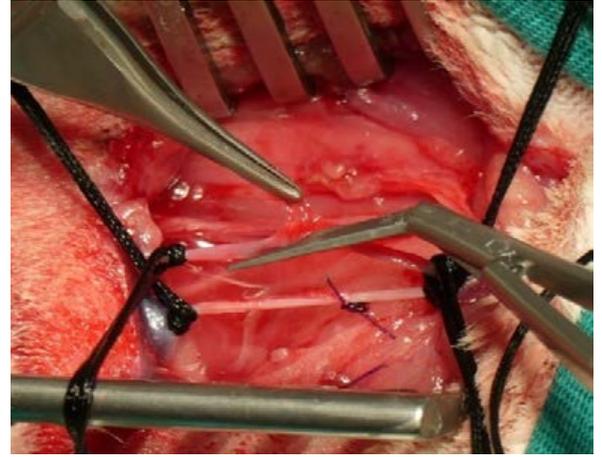


Figura 8. Realización de solución de continuidad en vena yugular de ejemplar cunícola con tijeras de Potts.

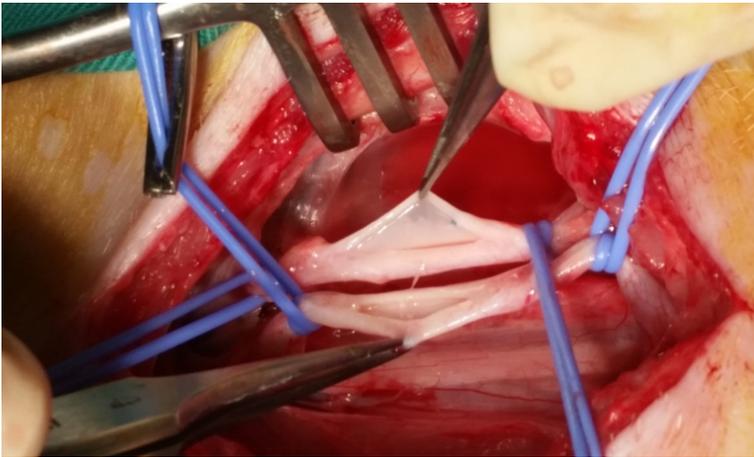


Figura 9. Incisión terminada en arteria carótida y vena yugular en ejemplar porcino.

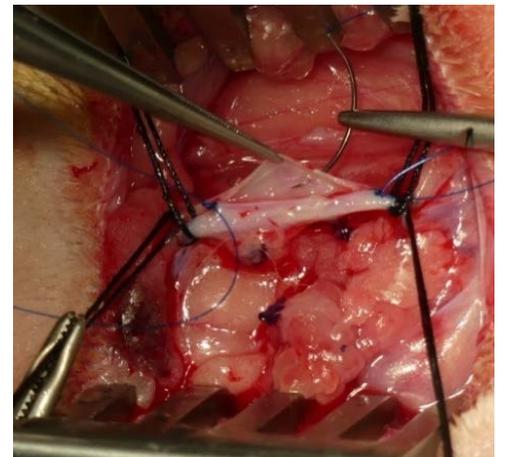


Figura 10. Realización de la anastomosis en ejemplar cunícola.



Figura 11. Imagen ecográfica doppler de ejemplar porcino. Obsérvense la vena yugular, arteria carótida y FAV.



Figura 12. Observación de la zona de palpación en ejemplar ovino. Día 90 tras la operación



Figura 13. Auscultación de FAV en ejemplar porcino.



Figura 14. Ejemplar porcino nº 2, angiografía previa a su eutanasia. Se inyectó contraste por la arteria carótida común contralateral a la FAV (derecha de la imagen). Obsérvese como el contraste ha pasado a la carótida común ipsilateral a la FAV a través de las arterias comunicantes y, de la carótida común por la FAV a la yugular externa (izquierda de la imagen). Se evidencia por tanto la hipertensión venosa y las causas de quemosis y exoftalmos.



Figura 15. Fístula arteriovenosa del mismo ejemplar ovino después de la eutanasia.



Figura 16. Ojo derecho cerdo 2. Obsérvese la quemosis y exoftalmos.

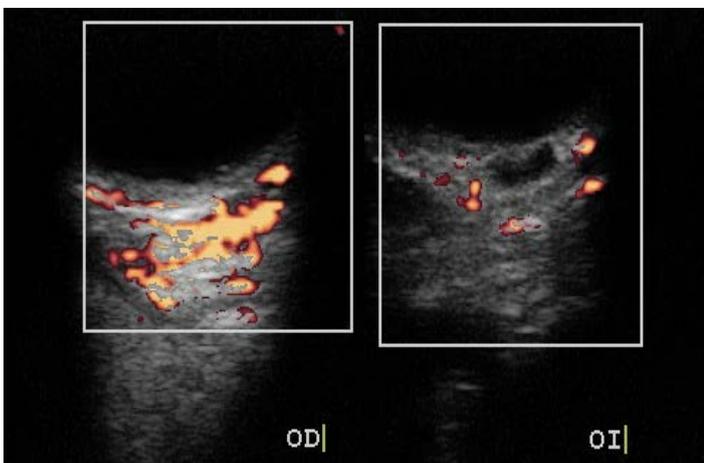


Figura 17. Comparación de vascularización entre ojo derecho y ojo izquierdo de ejemplar porcino número 2 mediante eco doppler.



Figura 18. Varices en el cuello de ejemplar porcino

## ANEXO 2. FÁRMACOS Y MATERIALES USADOS.

	OVINO	PORCINO	CUNÍCOLA
<b>PREMEDICACIÓN</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Xilacina 0,2 mg/kg.</li> <li>• Ketamina 0,11 mg/kg.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Zolacepam 0,03 mg/kg.</li> <li>• Tiletamina 4 mg/kg.</li> <li>• Xilacina 1,5 mg/kg.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dexmedetomidina 0,2 mg/kg.</li> <li>• Ketamina 15 mg/kg.</li> </ul>
	Anestesia local tópica: Lidocaína (Xilonibsa® Aerosol 10%, Inibsa laboratorios, España)		
<b>INDUCCIÓN</b>	Propofol dosis-efecto.		
<b>MANTENIMIENTO</b>	Isoflurano (CAM: 1,3)	Isoflurano (CAM: 1,3-1,65)	Isoflurano (CAM: 2)
	Analgésia de rescate: fentanilo (Fentadon® 50µg/ml, Dechra, Países Bajos)		
<b>POST-CIRUGÍA</b>	Cobertura analgésica		
	Ketoprofeno 3mg/kg (Ketofen® 10%, Merial, España)	Buprenorfina 0,01 mg/kg (Buprenodale® 0,3 mg/ml, Dechra, España)	Meloxicam 0,3 mg/kg (Metacam® 5mg/ml, Boehringer Ingelheim, Alemania)
	Cobertura antibiótica		
	Oxitetraciclina 20 mg/kg (Terramicina® L.A. 200mg/ml, Zoetis, España)	Enrofloxacina 10 mg/kg SC (ALSIR® 2,5%, Esteve, España)	

**MATERIALES**

**INSTRUMENTAL QUIRÚRGICO**

Bisturís nº 3 , tijeras Metzenbaum, tijeras Mayo, pinzas de Semkin, Adson y deBakey , disector, pinzas de Allis, pinzas hemostáticas Halsted y Köcher, separador de Weitlaner, vesseloops®, pinzas Backhaus, porta agujas Mayo Hegar.

**FUNGIBLE:**

Hojas de bisturí nº 11, sutura no absorbible monofilamento (Prolene®, Ethicon, Estados Unidos) 5/0 con punta redonda y doble aguja para la fístula, sutura absorbible monofilamento (Monosyn®, BBraun, España) 2/0 con punta redonda para tejido subcutáneo, sutura absorbible monofilamento (Monosyn®, BBraun, España) 3/0 con punta triangular para piel, guantes estériles, catéteres endovenosos de diferentes calibres (Introcan, BBraun®, España), guantes de exploración, jeringas, agujas, gasas estériles y no estériles, venda gasa, betadine jabonoso, betadine acuoso, alcohol, agua oxigenada, cal sodada.

**NO FUNGIBLE**

Tubos endotraqueales, bolsas reservorio, paños de campo, batas.

**CIRCUITO ANESTÉSICO**

Circular cerrado	T de Ayre
------------------	-----------

**FLUIDOTERAPIA VÍA DE ACCESO**

Y Ringer lactato: 4 ml/kg/h→ Vena cefálica	Ringer lactato: 4 ml/kg/h→ Vena marginal de la oreja
--	--

**FÍSTULA**

Yugular externa-carótida común	Yugular externa-carótida común	Yugular externa-carótida común
Basílica-braquial	Yugular interna- carótida común	

### ANEXO 3. SEGUIMIENTO DEL ESTADO CLÍNICO.

Datos registrados en el seguimiento del estado clínico (O: oveja, P: cerdo, C: Conejo). Las zonas vacías corresponden a parámetros que no se aplican a la especie en concreto.

	DÍA 0							DÍA 30							DÍA 60							DÍA 90							DÍA 120						
	O1	O2	P1	P2	P3	C2	C3	O1	O2	P2	P3	C2	C3	O1	O2	P2	P3	C2	C3	O1	O2	P2	C2	C3	O1	O2	C2	C3							
<b>Frecuencia cardíaca (lat/m).</b>	126	105	91	110	85	172	180	115	110	104	80	144	166	105	98	96	91	136	148	102	110	98	142	150	90	100	148	140							
<b>Frecuencia respiratoria (mov/m)</b>	21	18	18	20	22	55	62	17	16	28	25	52	56	19	15	20	22	48	58	18	22	29	60	62	15	16	54	58							
<b>Temperatura rectal (°C).</b>	38,7	39,2	38,2	39,1	39,3	39,1	39,2	38,5	39,1	38,6	39,2	38,9	39,1	38,9	38,8	39,2	38,7	39,2	39	39,3	39,5	40	38,8	39,2	38,8	39,1	39,1	39,2							
<b>Apariencia anormal: (ansiedad, depresión, inactivo, inquieto). (SI/NO)</b>	NO	NO				NO	NO	NO	NO			NO	NO	NO	NO			NO	NO	NO	NO			NO	NO	NO	NO	NO	NO						
<b>Respiración rápida y superficial. (SI/NO)</b>	NO	NO	NO	NO	NO			NO	NO	NO	NO			NO	NO	NO	NO			NO	NO	SI			NO	NO									
<b>Rechinar de dientes. (SI/NO)</b>	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	NO	NO							
<b>Lamido o frotado persistente en un área. (SI/NO)</b>	NO	NO						NO	NO					NO	NO					NO	NO				NO	NO									
<b>Rechaza el agua y/o el alimento. (SI/NO)</b>	NO	NO				NO	NO	NO	NO			NO	NO	NO	NO			NO	NO	NO	NO			NO	NO	NO	NO	NO	NO						
<b>Peso (Kg). (SI/NO)</b>	38,5	32,9	28,5	26,1	27,3	4,1	4	42,6	36,3	43	41,3	5,2	4,1	46,2	41	68	65	4,5	4,2	50	46,3	78	4,6	4,1	54	49,3	4,7	4,1							
<b>Rechazo al movimiento. (SI/NO)</b>			NO	NO	NO	NO	NO			NO	NO	NO	NO			NO	NO	NO	NO			SI	NO	NO			NO	NO							
<b>Tensión en zona periorbitaria. (SI/NO)</b>			NO	NO	NO					NO	NO					NO	NO					NO													
<b>Menor reticencia a ser inmovilizados. (SI/NO)</b>			NO	NO	NO					NO	NO					NO	NO					SI													
<b>Piloerección y temblores. (SI/NO)</b>			NO	NO	NO					NO	NO					NO	NO					SI													
<b>Vocalizaciones persistentes o movimientos lentos. (SI/NO)</b>			NO	NO	NO					NO	NO					NO	NO					SI													
<b>Chillidos o quejidos. (SI/NO)</b>						NO	NO					NO	NO					NO	NO					NO	NO			NO	NO						

### ANEXO 4. DATOS ECOGRÁFICOS.

	DÍA 7		DÍA 30			DÍA 60			DÍA 90			DÍA 120	
	O1	O2	P2	O1	O2	P2	O1	O2	P2	O1	O2	O1	O2
Diámetro transversal de la arteria proximal (cm)	0,81	0,4	0,97	0,89	0,43	0,97	1,18	0,64	0,73	1,39	0,74	1,3	0,66
Diámetro transversal de la arteria distal (cm)	0,49	0,51	0,92	0,46	0,72	0,92	0,68	1,04	0,87	0,7	0,73	0,68	0,84
Diámetro transversal de la vena proximal (cm)	1,41	0,91	1,13	2,01	1,48	1,13	3,11	2,54	1,80	2,78	1,89	3,55	2,87
Diámetro transversal de la vena distal (cm)	2,33	2,03	1,9	2,81	2,9	2,21	3,38	3,68	3,10	2,76	3,73	3,71	3,93
Diámetro longitudinal de la fístula arteriovenosa (cm)	0,69	1,14	0,9	0,93	1,06	0,92	1,2	0,96	0,82	1,13	1,11	0,9	0,91
Diámetro transversal de la fístula arteriovenosa (cm)	0,47	0,37	0,56	0,57	0,59	0,52	0,68	0,67	0,57	0,69	0,61	0,74	0,71
Velocidad flujo sanguíneo (cm/s)	206	92,33	163	217	58	111	173	54	121	254	52	301	58

Tabla 3: Resumen de los datos ecográficos registrados a lo largo del experimento.

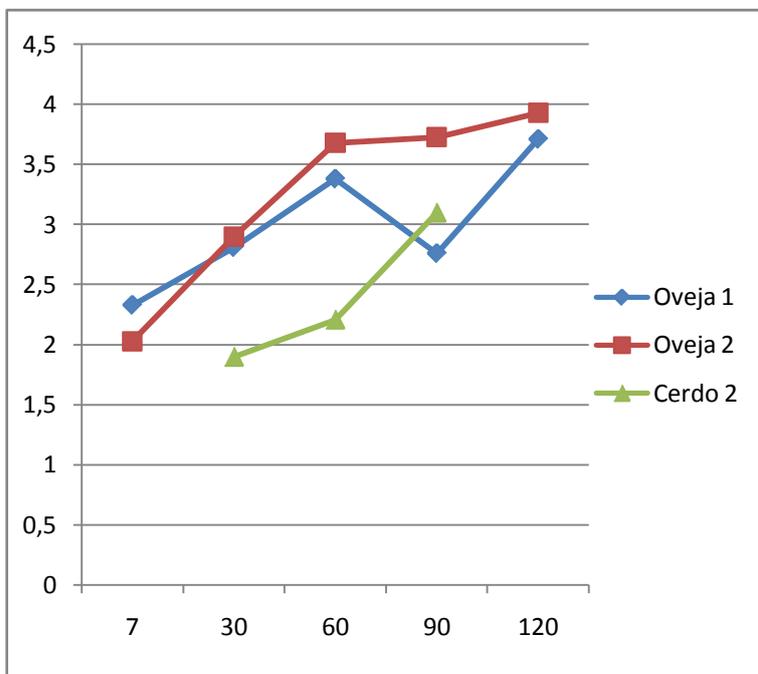


Gráfico 1. Evolución del diámetro de la vena distal (Eje Y= cm) en el tiempo (Eje X= días).

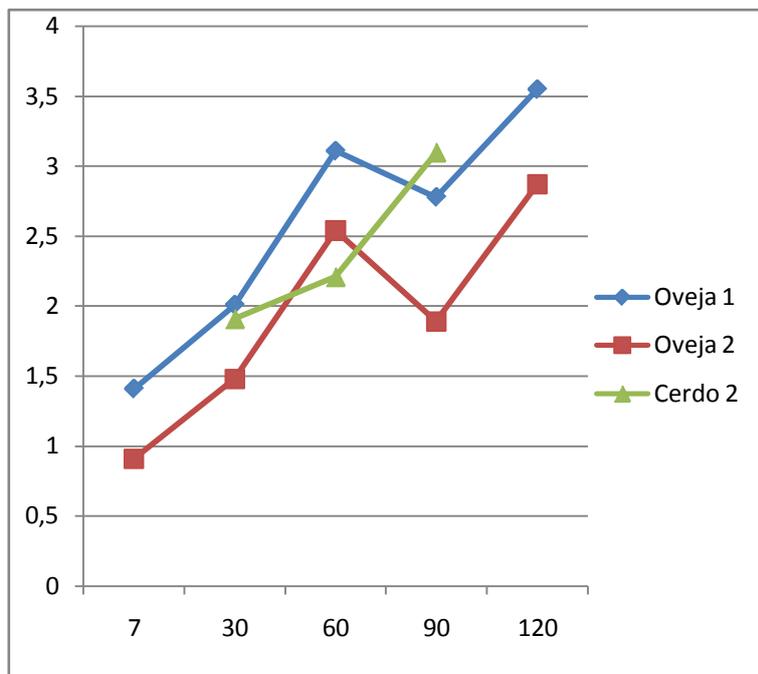


Gráfico 2. Evolución del diámetro de la vena proximal (Eje Y= cm) en el tiempo (Eje X= días).

## **10. AGRADECIMIENTOS.**

A mi tutora, Carolina Serrano, por haberme guiado desde el primer momento con paciencia y cariño y haberme ayudado a crecer mucho tanto a nivel personal como profesional.

A Miguel Ángel, por haber confiado en mi y porque sin él nada hubiera sido posible, además de haberme enseñado mucho sobre el mundo de la investigación y la radiología intervencionista.

A Sergio y Sandra, por haberme ayudado desinteresadamente desde el primer día, haber aportado sus conocimientos y su entusiasmo y porque sin ellos no hubiera podido realizar la parte experimental.

A Eduardo y a Celia Lahuerta, por estar ayudando siempre en lo que se necesite, haberme tratado siempre con paciencia y haber estado atentos a todo el proceso para que salieran las cosas adecuadamente.

A Sikia, por haber realizado todas las ecografías con alegría, felicidad y ganas de aprendizaje y por sus consejos sobre la vida.

A Javier y Celia Claver, por haberme ayudado tomando fotos de todo, aportando manos allá donde fuesen necesarias y por su apoyo personal.

A Dâmaris, por venir a ayudar siempre con una sonrisa y aportar su trabajo siempre que fuera necesario.

A Francesc, por habernos ayudado a perfeccionar la técnica quirúrgica y habernos enseñado a como se hacen las fístulas arteriovenosas en la especie humana.

A mi familia, por haberme apoyado siempre en las decisiones que he tomado y ser el pilar gracias al que he llegado a ser quien soy.