

104
24



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA**

**PERFUSION DE PANCREAS FELINO CON
SOLUCIONES HIPERTONICO-HIPERONCOTICAS;
ESTUDIO MICROSCOPICO.**

Tesis presentada ante la
División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
de la
Universidad Nacional Autónoma de México
Para la obtención del título de
Médico Veterinario Zootecnista
por
JESUS HUERTA RAMOS



**Asesores: MVZ Eliseo Portilla de Buen
MVZ Nuria de Buen Lladó**

**México, D. F.
1989**

**TESIS CON
FALTA DE ORIGEN**



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
MATERIAL Y METODOS.....	4
RESULTADOS.....	6
DISCUSION.....	8
CONCLUSIONES.....	11
LITERATURA CITADA.....	12
CUADROS.....	14
FIGURAS.....	15

RESUMEN

HUERTA RAMOS, JESUS. Perfusion de páncreas felino con soluciones hipertónico-hiperoncóticas; estudio microscópico (bajo la dirección de: Eliseo Portilla de Buen y Nuria de Buen Liadó).

Con el objeto de comparar el efecto de una solución de perfusión común (Hartmann), con el de una solución hipertónica-hiperoncótica (Rescueflow), se realizó preservación *in situ* de páncreas durante una hora, incluyendo la perfusión de dichas soluciones en dos grupos de seis gatos cada uno. A la observación microscópica se encontró ligero edema en el grupo perfundido con Hartmann, mientras que el grupo perfundido con Rescueflow presentó evidencia de desecación severa. Se concluyó que, con la técnica utilizada, se observan cambios más severos a nivel histopatológico con Rescueflow que cuando se utiliza solución de Hartmann. Sin embargo no es posible con estos datos dar un pronóstico de viabilidad o funcionalidad post-trasplante. Se sugieren además posibles líneas de estudio posterior.

INTRODUCCION

Entre 1966 y 1980 se informó en la literatura médica de la realización de 128 trasplantes de páncreas en 118 pacientes (12). El desarrollo de estas técnicas ha incluido como parte fundamental la utilización de diferentes métodos de preservación. Sin embargo, aun no se ha logrado encontrar el método que permita una preservación adecuada a largo plazo. Se ha utilizado gran variedad de técnicas, sin que aun existan resultados satisfactorios (2, 3, 5). Técnicamente, la preservación fría es más simple y ventajosa que la perfusión (1). Se ha preferido, en los casos en que el órgano donado puede implantarse de inmediato, la perfusión de una solución cristalóide fría como Hartmann o Collins. Sin embargo, una de las dificultades técnicas encontradas es la formación de edema, que pudiera estar relacionado con la presión de perfusión, o bien directamente con las características fisicoquímicas de la solución preservadora. El uso de soluciones hipertónicas es conocido desde hace años para el manejo del choque hipovolémico (8). En los pacientes chocados tratados con soluciones de hasta 2 400 miliosmoles, el efecto más aparente es un aumento del gasto cardíaco y la presión arterial, con reducción de las resistencias periféricas (8). Este efecto no se debe quizá sólo a la capacidad reestablecedora de volumen, sino también a un mejor control de la microcirculación (7). Además, las soluciones

hipertónicas e hiperoncóticas mejoran los gradientes de agua y sodio tisulares (4). El uso de estas soluciones no es aun muy generalizado, ni han sido utilizadas para preservación de órganos.

Resulta de interés la posibilidad de uso de estas soluciones para evitar el edema tisular y probablemente mejorar el comportamiento microvascular de los injertos perfundidos.

El presente trabajo fue diseñado con el objeto de comparar el efecto de una solución de perfusión común (solución de Hartmann), con el de una solución hipertónico-hiperoncótica (Rescueflow), bajo la hipótesis de que la solución hipertónico-hiperoncótica produciría menos cambios que la solución de Hartmann, a nivel tisular.

MATERIAL Y METODOS.

Se trabajaron doce gatos adultos. El Cuadro 1 muestra los datos correspondientes a sexo, peso y grupo experimental de cada animal. Se sometieron a anestesia con clorhidrato de xilazina (1.1 mg/kg IM) y ketamina (30 mg/kg IM). Se intubaron y conectaron a un ventilador de presión.

Enseguida se realizó la preparación del páncreas para perfusión *in situ* de la manera siguiente: se llevó a cabo esplenectomía total para lograr una mejor visualización de las estructuras a trabajar; se refirió tronco celíaco, arteria gástrica, vena pancreaticoduodenal y arteria aorta, en sus dos cabos proximales al tronco celíaco. Enseguida se realizó corte de la aorta a la altura del tronco celíaco, por el que se introdujo un catéter del No. 17, para iniciar la perfusión de una solución, de acuerdo con el grupo experimental correspondiente. Inmediatamente se seccionó la vena pancreaticoduodenal, para permitir el drenaje y desecho de la solución (Figura 1).

A los animales se les asignó a uno de dos grupos, de acuerdo con la solución de perfusión utilizada. El grupo 1 (6 gatos), se perfundió con solución de Hartmann, el grupo 2 (6 gatos), se perfundió con solución hipertónico-hiperoncótica. La cantidad infundida en ambos grupos fue de 125 ml de solución a 4° C, a un metro de altura respecto al páncreas, por una línea de venoclisis. Se agregó a las soluciones 5 000 U.I. de heparina/250 ml. Al terminar la perfusión, se

extrajerón los páncreas en su totalidad y se sumergieron en una mezcla 50% solución fisiológica fría y 50% solución fisiológica congelada, hasta completar un período de isquemia total de una hora. Enseguida se sumergieron en una solución de Bouin alcohólico, para ser procesados con el método rutinario de inclusión en parafina. Se realizaron cortes de 6 micras en microtomo, y se tiñeron con hematoxilina y eosina, para su observación histológica.

Dos gatos más fueron utilizados como grupo control. En estos se llevó a cabo anestesia en la misma forma que con los grupos experimentales y laparotomía. Enseguida se reseccó el páncreas en su totalidad y se sumergió de inmediato en Bouin alcohólico. Estos páncreas se consideraron como histológicamente "normales".

RESULTADOS.

En todos los casos, se logró una perfusión satisfactoria de los páncreas, lo que fue confirmado al observar el flujo de un líquido cristalino a través de la vena pancreaticoduodenal. Esto se consideró como un indicador de que los órganos estaban siendo perfundidos por la solución, en su totalidad.

Macroscópicos.

La diferencia más importante notada entre los páncreas de cada grupo fue un evidente edema en los del grupo Hartmann, especialmente del tejido adiposo peripancreático, mientras que los del grupo Rescuflow presentaron un aspecto normal.

Microscópicos.

Las Figuras 2 y 3 muestran cortes histológicos de los páncreas considerados "normales". Los tabiques se observan sin alteraciones. Es posible identificar células acinares con una porción basófila, y otra más clara hacia el centro. Los nucleolos son prominentes y de aspecto normal. Los islotes presentan nitidez y forma de los núcleos normal. No se observan alteraciones en el aspecto de los conductos interlobulillares.

Las Figuras 4 y 5 muestran cortes histológicos de los páncreas perfundidos con solución de Hartmann. En estos casos, los espacios interlobulares, correspondientes a las

zonas donde se encuentran los tabiques, se observan más abiertos. Las células acinares permanecen con núcleo y nucleolos bien definidos. El citoplasma de las mismas tiene el aspecto granular normal. Las células de los islotes se observan de mayor tamaño, con citoplasma abundante, de aspecto esponjoso.

Las Figuras 6 y 7 muestran cortes histológicos de los páncreas perfundidos con Rescuflow. Es muy notorio el agrandamiento de los espacios interlobulillares. Los lóbulos se observan comprimidos. Las células acinares deformes, especialmente en su porción basal, con núcleos picnóticos poco definidos. Las células de los islotes se ven disociadas unas de otras y presentan núcleos grandes picnóticos y escaso citoplasma. Los conductos interlobulillares se observan más cerrados.

DISCUSION.

Uno de los hallazgos más frecuentes durante la preservación de páncreas para trasplante ha sido la formación de edema.

(15) Esto ha llevado a diseñar soluciones que reduzcan la extravasación de líquidos durante la perfusión. (2) En este experimento, el interés fue observar el edema y comparar el efecto sobre el mismo de la solución hipertónico-hiperoncótica, por lo que las condiciones de trabajo involucraron una presión de perfusión mucho mayor a la habitual (100 cm H₂O vs 30 cm H₂O). Con el mismo objeto, se infundió una cantidad de solución muy por arriba de la que requerirían los páncreas del tamaño utilizado. Además, como se confirmó visualmente, una buena parte de las soluciones fue infundida a otras estructuras, como el hígado, que al final de la perfusión presentó un color claro.

En cuanto a las observaciones histopatológicas, puede concluirse que la solución de Hartmann produjo un edema ligero, mientras que la solución hipertónico-hiperoncótica prácticamente desecó el tejido. Se podría considerar que la estructura microscópica, en apariencia se alteró menos en el grupo perfundido con solución de Hartmann. Sin embargo, consideramos que esto no es un índice válido como pronóstico de viabilidad, ya que se sabe que la demostración morfológica de cambios celulares isquémicos no es necesariamente evidencia de lesión isquémica irreversible. (11)

Fiorack y cols. (2), lograron aumentar la viabilidad de páncreas caninos hasta después de 48 horas de isquemia, mediante el uso de soluciones ligeramente hiperosmóticas con plasma modificado con sílica-gel. Este hito evidente la importancia de la osmolaridad de la solución preservadora en el pronóstico de viabilidad del injerto.

En el caso de corazón y pulmón, se ha observado en múltiples ocasiones que el pronóstico de viabilidad es más pobre, mientras mayor edema se presente. (6,10)

En el caso del cerebro, se ha descrito un fenómeno de círculo vicioso, en el que la isquemia genera edema, y al mismo tiempo, éste genera mayor isquemia. (9) Ya que el páncreas es un órgano con flujos bajos, se ha observado una tendencia marcada a la trombosis en el periodo post-trasplante inmediato, que, suponemos, podría ser agravado también por la presencia de edema.

Arfors y cols.* consideran que la presencia de edema puede resultar más grave que la aparente "desecación" celular, que podría ser reversible en los casos estudiados. Esto obliga a considerar la realización de más estudios, con referencia especial al comportamiento funcional después de la preservación con Rescueflow.

Las células de aspecto encogido no pueden considerarse con lesión irreversible. (11) De hecho, Hossman ha demostrado, en estudios de isquemia cerebral, que la recirculación positsquémica adecuada, en forma invariable lleva a edema

*Arfors, K.; Comunicación personal, 1988.

cerebral considerable. (11) Aunque lo observado en este trabajo no lo demuestra, el tener un tejido "desechado" antes de la recirculación podría reducir el grado de edema. Otra alternativa podría ser la infusión de soluciones hipertónicas-hiperoncóticas sólo en el periodo inicial postisquémico, como ha sido sugerido por Hosemann para el tratamiento de la isquemia cerebral con manitol o sorbitol. (13)

Safar y cols. consideran que uno de los pronósticos de reversibilidad de la lesión isquémica podría ser el grado de lesión endotelial y su repercusión sobre la microcirculación. (11) Intaglietta, en La Joya**, ha demostrado que la solución hipertónico-hiperoncótica tiene un doble efecto sobre el capilar; por un lado, extrae de la célula endotelial el agua acumulada durante la isquemia y por otro, reactiva el tono de la musculatura lisa, lo que redundaría en un mejor control de la microcirculación.

Se ha informado que el páncreas canino soporta hasta una hora de isquemia caliente, sin que se presenten alteraciones funcionales de importancia. Cabría quizá en estudios posteriores prolongar los periodos isquémicos hasta 6 horas, que ha sido el tiempo limitante de preservación observado hasta ahora. (14)

**Intaglietta, M.; Comunicación personal, 1989.

CONCLUSIONES.

La perfusión de páncreas felinos con soluciones hipertónicas-hiperoncóticas en la manera descrita, produce cambios más severos a nivel histopatológico que cuando se utiliza solución de Hartmann. Sin embargo, no es posible con estos datos dar un pronóstico de viabilidad o de funcionalidad post-trasplante.

LITERATURA CITADA

- 1.- Baumgartner, D., Sutherland, D.E.R. and Najarian, J.S.: Studies on segmental pancreas autotransplants in dogs: Technique and preservation. Transplant. Proc., 12: 163-171 (1980).
- 2.- Florack, G., Sutherland, D.E.R., Heil, J., Zweber, B. and Najarian, J.S.: Long-term preservation of segmental pancreas autografts. Surg., 92: 260-269 (1982).
- 3.- Florack, G., Sutherland, D.E.R., Squifflet, J.P., Morrow, C.E. and Najarian, J.S.: Preservation of segmental pancreatic autografts by pulsatile machine perfusion. Transplant. Proc. 15, 1314-1317 (1983).
- 4.- Gunnar, W.P., Merlotti, G.J., Barret, J. and Jonasson, O.: Resuscitation from hemorrhagic shock. Ann. Surg. 204 686-692 (1986).
- 5.- Hesse, U.J., Sutherland, D.E.R., Gores, P.F. and Najarian, J.S.: Experience with 3, 6, and 24 hours hypothermic storage of the canine pancreas before islet cell preparation and transplantation. Surg., 102. 460-464 (1987).
- 6.- Ionescu, M.: Techniques in Extracorporeal Circulation; 2a ed., 110-120, Butterworths, EUA, 1981.
- 7.- Kramer, G.C., Ferron, P.R., Lindsey, D.C., Ho, H.S., Gunther, R.A., Boyle, W.A. and Holcroft, J.W.: Small-volume resuscitation with hypertonic saline dextran solution. Surg., 100: 239-246 (1986).
- 8.- Makayama, S., Sibley, L., Gunther, R.A. Holcroft, J.W. and Kramer, G.C.: Small-volume resuscitation with hypertonic saline (2400 mOsm/Liter) during hemorrhagic shock. Circ. Shock., 13: 149-157 (1984).
- 9.- Minderhoud, J.M.: Flujo Sanguíneo Cerebral. 110 El Manual Moderno; México, 1983.
- 10.- Montefusco, C. and Veith, F.: Lung Transplantation. Principles of Organ Transplantation. Edited by: Flye, W.M.; 420, W.B. Saunders Co.; Philadelphia, 1989.

11. Moossy, J.; Safar, P.; Adler, S.; Arfors, K.; Baethmann, A.; Basford, R.; Bontempo, F.; Cerchiari, E.; Chandra, N.; Garcia, J.; Hossmann, K.; Jennings, R.; Kang, Y.; Negovsky, V.; Nemoto, E.; Obrist, W.; Fettafrew, J.; Pinsky, M.; Severinghaus, J.; Siesjö, B.; Weil, M.; White, B.; Wolf, G. and Wolfson, S.: Pathophysiologic limits to the reversibility of clinical death. Critic. Care Med. 16: 1022-1033 (1988).
- 12.- Nolan, M.S., Lindsey, N.J., Ingram, N.P., Herold, A., Slater, D.N., Beck, S. and Fox, M.: Hypothermic preservation of the pancreas: Comparison of three infusion media. Transplant. Proc. 15: 1311-1313 (1983).
- 13.- Stephenson, H. E., Safar, P.; Arfors, K.; Baethmann, A.; Basford, R.; Bontempo, F.; Dindzans, V.; Hossmann, K.; Jennings, R.; Knickerbocker, G.; Kochanek, P.; Pinsky, M.; Rosborough, J.; Severinghaus, J.; Siesjö, B.; White, B. and White, R.: Treatment potentials for reversing clinical death. Critic. Care Med. 16: 1034-1042 (1988).
- 14.- Sutherland, D.; Kendall, D.; Goetz, F. and Najarian, J.: Pancreas Transplantation in Humans. Principles of Organ Transplantation. Edited by: Flye, W.M.; 376, W.B. Saunders Co.; Philadelphia, 1989.
- 15 Tersigni, R. and Toledo-Pereyra, L.: Pancreas Preservation. Basic Concepts of Organ Procurement, Perfusion, and Preservation for Transplantation. Edited by: Toledo-Pereyra, L.; 259-277, Academic Press, Inc.; New York, 1982.

Cuadro 1. Descripción de los grupos experimentales.

Grupo 1.

No. Gato	Sexo	Peso (kg)
1	Hembra	5.400
2	Hembra	5.800
3	Macho	6.200
4	Hembra	5.350
5	Hembra	5.150
6	Hembra	5.450
	Promedio:	5.558

Grupo 2.

No. Gato	Sexo	Peso (kg)
1	Hembra	5.250
2	Macho	6.300
3	Macho	6.150
4	Hembra	5.100
5	Macho	5.900
6	Hembra	5.250
	Promedio:	5.658

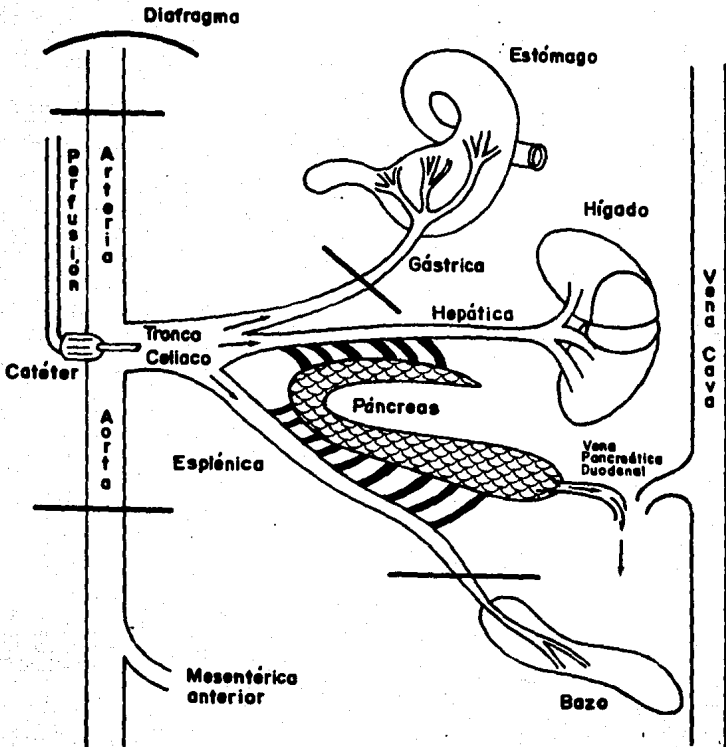


Figura 1

Figura 1. Aspectos anatómicos de la técnica de perfusión in situ en páncreas felino.

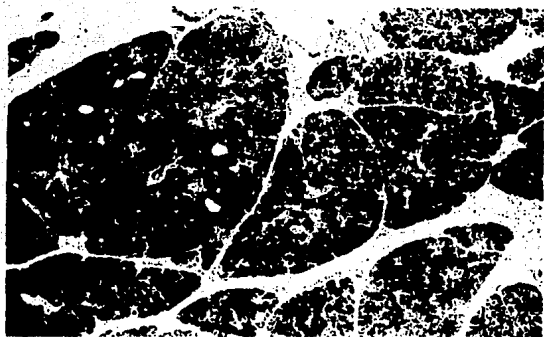


Figura 2. Corte histopatológico de un páncreas felino normal. HE; X 40.

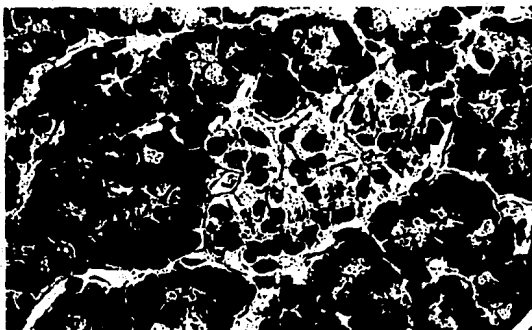


Figura 3. Corte histopatológico de un pâncreas felino normal. HE, X 160.



Figura 4. Corte histopatológico de un páncreas felino perfundido con solución de Hartmann. HE; X 63.

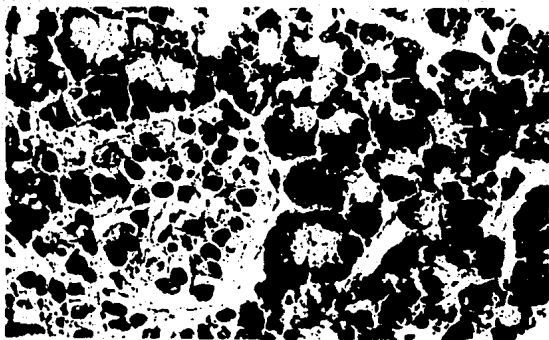


Figura 5. Corte histopatológico de un páncreas felino perfundido con solución de Hartmann. HE; X 160.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

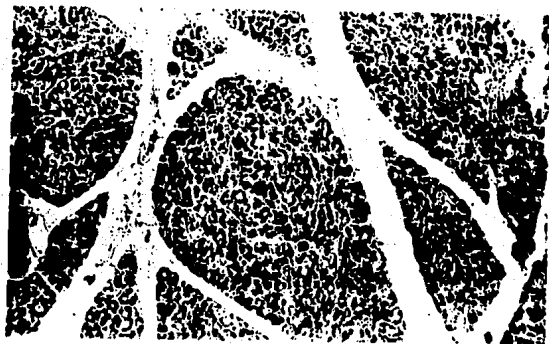


Figura 6. Corte histopatológico de un páncreas felino perfundido con solución hipertónico-hiperoncótica. HE; X 63.

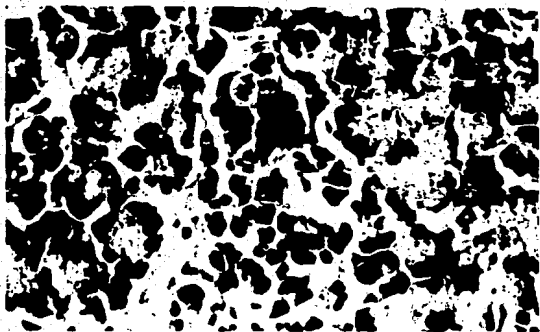


Figura 7. Corte histopatológico de un páncreas felino perfundido con solución hipertónico-hiperoncótica.
HE; X 160.