

11209
2454



Universidad Nacional Autónoma de México



Facultad de Medicina
División de Estudios de Postgrado
Dirección General de Servicios Médicos del
Departamento del Distrito Federal
Dirección de Enseñanza e Investigación
Curso Universitario de Especialización en Cirugía General

AUTOTRASPLANTE DE ISLOTES DE LANGERHANS A PULPA ESPLENICA

Trabajo de Investigación Experimental

P r e s e n t a :

Dr. Gabriel Alberto Mejía Consuelos

Para obtener el grado de:

ESPECIALISTA EN CIRUGIA GENERAL

Director de Tesis: **DR. FCO. JAVIER CARBALLO CRUZ**

1985

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

I N D I C E

- I.- INTRODUCCION**
- II.- JUSTIFICACION**
- III.- HIPOTESIS**
- IV.- ANTECEDENTES HISTORICOS**
- V.- MATERIAL Y METODOS**
- VI.- RESULTADOS**
- VII.- DISCUSION**
- VIII.- CONCLUSIONES**
- IX.- BIBLIOGRAFIA**

INTRODUCCION

El objetivo principal de este estudio es demostrar - que el autotrasplante de islotes de Langerhans es efectivo - en mantener un metabolismo de carbohidratos normal en aque- llos sujetos que por alguna circunstancia sus islotes se han visto amenazados.

Numerosos estudios se han realizado con el mismo fin siguiendo diferentes técnicas para lograr el objetivo desea- do, si bien no todas han tenido éxito. Una vez alcanzando - la cumbre de experimentos de este tipo, podrá entonces apli- carse como un método más, incluso, para " curar " la Diabe- tes Mellitus como se está experimentando con el trasplante - de islotes de feto muerto a madres diabéticas con relativo - éxito hasta el momento.

Una vez logrado el autotrasplante por un método sim- ple y logrando la supervivencia de los islotes, se abre un - amplio camino de investigación para resolver muchos proble- mas relacionados con el metabolismo de los carbohidratos, en- tre otros, la Diabetes Mellitus provocada por la pancreati- tis crónica, pancreatitis traumática, pancreatitis aguda, - etc.

Nuestro estudio se ha orientado hacia la aplicación -

de este método en sujetos que han sufrido un trauma abdominal severo con amplia participación del páncreas y que por ende no es posible su reparación, viéndonos en la necesidad de realizar pancreatectomías parciales o totales con el riesgo de provocar la secuela insulino-dependiente.

En nuestros hospitales, la gran mayoría de pacientes que ingresan al servicio de Urgencias tienen el antecedente de haber sufrido un traumatismo (85%), de éstos, un gran porcentaje presentan contusión profunda de abdomen o heridas ya sea por instrumento punzocortante o por proyectil de arma de fuego (15%) con lesión de órganos intraabdominales, en ocasiones el páncreas.

El trauma pancreático puede ser tan severo que puede encontrarse fracturado en su cuello principalmente por la presión efectuada sobre las vértebras y con tumefacción importante y hematomas que hacen imposible la reparación del mismo, no se diga cuando observamos compromiso vascular macroscópico, por lo que la única opción ha sido la resección de ese segmento con la aflicción del Cirujano pues está consciente de los peligros a que expone a su paciente con esta medida ya que a pesar de que la técnica empleada sea muy depurada y se consiga en un lapso de tiempo razonable, las complicaciones inherentes al trastorno en el metabolismo de carbohidratos puede conducirlo a la muerte máxime que el trauma sufrido y el acto quirúrgico ya son mecanismos que disparan diversas alteraciones metabólicas.

La utilización de animales para el experimento se justifica en virtud de no ser un método plenamente comprobado - por lo que aún hay riesgos que pueden incluso conducir a la muerte. Por lo tanto también debemos aclarar que estuvimos conscientes de que independientemente de los resultados, la conformación anatómica y funcional del perro es diferente a la del hombre.

JUSTIFICACION

La investigación satisface la necesidad de conocer, y la curiosidad del ser humano es tan fuerte como el hambre y el sueño.

La investigación que se propuso en este protocolo siguiendo los pasos del método científico tuvo la importancia de tratar sobre la vida misma; sobre la posibilidad de sobre vivir ante una situación que amenaza con interrumpir el proceso vital.

De estudios realizados con anterioridad sabemos que los islotes de Langerhans son pilar fundamental en el metabolismo de los carbohidratos y que éstos a su vez son indispensables para el buen funcionamiento corporal. Dichos islotes están expuestos como toda célula humana a diversas agresiones o alteraciones que pueden ser de índole hereditaria, metabólica, traumática, iatrogénica, etc., por citar algunos ejemplos. Estas agresiones crean circunstancias bajo las cuales los islotes de Langerhans se ven comprometidos lo que los incapacita para desarrollar funciones normales, situación que no se observaría en caso de que estos islotes se rodearan de un ambiente con los recursos necesarios.

En la actualidad existe un gran auge en investigaciones como ésta debido al alto índice de fracasos con injertos heterólogos teniendo en cuenta el obstáculo que representa la respuesta inmunológica por lo que se ha tratado de desarrollar sustancias que neutralicen las determinantes antigénicas como el glutaraldehído aunque los resultados han sido contradictorios en algunos casos y exitosos en otros.

Estudios similares a éste se han realizado con éxito en el autotrasplante de glándula suprarrenal a músculo sartorio y de tiroides al bíceps aunque debemos tener en cuenta que el tiempo es el mejor juez y debemos esperar su veredicto.

Por lo anterior considero que deben desarrollarse más las técnicas de autotrasplante mientras no se encuentren sustancias capaces de eliminar o neutralizar las determinantes antigénicas o que se desarrollen nuevos fármacos que limiten la respuesta inmunológica sin riesgo para el paciente.

Otra de las motivaciones para la realización de este estudio fue el número de investigaciones en relación a este tema que es poco y de que en nuestro país únicamente en la Universidad Nacional Autónoma de México se han realizado (7).

El trabajo llevado a cabo está en la posibilidad de aportar conocimientos tanto en el método utilizado como en -

los resultados que se han obtenido con la opción de poder-continuar desarrollando nuevas técnicas para la obtención - como para el trasplante y entonces así poder aplicarse a - seres humanos en caso de que los resultados sean de beneficio.

HIPOTESIS

" EL AUTOTRASPLANTE DE ISLOTES DE LANGERHANS A PULPA ESPLÉNICA ES UTIL EN EL CONTROL DEL METABOLISMO DE CARBOHIDRATOS "

ANTECEDENTES HISTORICOS

No fue sino hasta 1920 cuando Gayet y Guilleme demostraron que un páncreas trasplantado podía regular la glicemia en el hombre o en perros diabéticos hasta por 12 horas. (14)

A través de estudios anatomopatológicos se descubrió que el páncreas en estos experimentos se revascularizó por anastomosis vascular directa practicada sobre sondas. Es de hacer notar que los fracasos se atribuyeron a trombosis vascular, pancreatitis y rechazo del injerto. Posteriormente, Bottin logró con el mismo método en 1936 (trasplante de toda la glándula), la supervivencia de un perro por 7 días con injerto pancreático homólogo por anastomosis vascular directa. Ya en 1959 Brooks y Glifford intentaron reducir las secreciones pancreáticas exócrinas y prevenir así la pancreatitis con relativo éxito. (5)

Posteriormente se realizaron diversos intentos por trasplantar el páncreas llegando al trasplante ortotópico homólogo en 1967 por Lagardier y cols. (6).

Durante la última década los investigadores se han mostrado a favor de los injertos segmentarios en lugar del páncreas íntegro. Se ha dado particular atención al proble-

ma del manejo de la secreción exócrina pancreática. Duber--
nard y cols. obliteraron el sistema de los conductos median--
te la inyección de neopreno, un polímero sintético que se en--
durece después de inyectado (13). Ello causa finalmente es--
clerosis de la totalidad del páncreas y el retorno de la hi--
perglicemia. Kyriakides y cols. trasplantaron intraperito--
nealmente en cerdos injertos pancreáticos segmentarios con -
conductos no ligados y demostraron que las secreciones pan--
creáticas drenaban libremente hacia la cavidad peritoneal, -
se resorbían rápidamente y no causaban complicaciones (15).-
Estos resultados se confirmaron en perros, y se encontró que
los injertos pancreáticos con conductos no ligados y no anas--
tomosados conservaban una función endócrina adecuada durante
varios meses de observación.

Los primeros estudios científicos de trasplante de -
páncreas en el hombre se iniciaron en Diciembre de 1966 con--
un trasplante renal y pancreático segmentario combinado por--
Kelly, Lillehei y cols. (17). La paciente toleró la supre--
sión de insulina, ya que era diabética, durante 6 días, has--
ta que el aumento de los valores de glucosa hizo necesario -
restituir el tratamiento con insulina.

Lillehei y cols. en 1970 publicaron una serie de in--
jertos homólogos pancreático-duodenales en 10 pacientes dia--
béticos con enfermedad renal en etapa final (18). Nueve re--
cibieron simultáneamente un trasplante renal de cadáver, y -

el décimo permaneció con hemodiálisis después del trasplante pancreático. La mortalidad fue elevada. Al momento del informe, ninguno había sobrevivido más allá de 11 meses, y en total sólo sobrevivieron dos enfermos.

En 1971, Gliedman y cols. anastomosaron el conducto pancreático en forma termino terminal a un uréter cortado en pacientes diabéticos urémicos por lo que las secreciones exócrinas se vertían directamente a la vejiga. Todos los injertos fracasaron (19). Posteriormente realizó injertos homólogos tomados de cadáver utilizando la misma técnica anterior pero sin ser urémicos sus pacientes obteniendo una sobrevida de dos años y otra de cuatro (20).

Debido a la alta incidencia de fracasos se procedió a desarrollar nuevas técnicas para trasplantar únicamente los islotes de Langerhans para lo cual Moskalewski contribuyó a este respecto al utilizar la colagenasa para el aislamiento de los islotes en 1965.

En 1967, Lacy y Kostianovski demostraron que la desorganización mecánica del páncreas mediante la inyección en el conducto de una solución de sal aumentaba el contacto de la colagenasa. Después de la digestión por la colagenasa, los islotes se separaron de los otros componentes del páncreas por la técnica de separación de gradiente de densidad discontinua de Lindall y cols. (21).

En 1972, Ballinger y Lacy demostraron por primera vez que los islotes aislados podían producir una mejoría prolongada de la Diabetes experimental. El estudio se llevó a cabo en ratas trasplantándose de 400 a 600 islotes isogénicos-previamente diabetizados con estreptozotocina (22).

Se ha obtenido éxito con muchos diferentes sitios de implantación de los islotes en roedores, que incluyen la colocación intraperitoneal, subcutánea y subcapsular en el riñón, y también en la cavidad torácica, testículos y con mayor eficacia, en el sistema porta. Sin embargo, los intentos por trasplantar tejido aislado de islotes adultos no tuvieron éxito en otros animales.

Una contribución importante al campo del trasplante de los islotes fue la demostración por Mirkovitch y Campiche (23) en 1976, de que los perros hechos diabéticos por pancreatectomía total podían hacerse normoglucémicos mediante el autotrasplante de tejido de islotes pancreáticos. También sugirieron que el trasplante de células de los islotes pancreáticos fuera eficaz en presencia de una enfermedad inflamatoria crónica del páncreas. Se necesitaban nuevas técnicas de preparación del tejido de los islotes.

Se ha demostrado actualmente que es posible aislar una preparación relativamente pura de islotes de páncreas adulto humano usando la digestión con colagenasa y la separa

ción por gradiente de densidad discontinua (10). También se ha comprobado que los islotes funcionan in vitro, sin embargo, el problema que se ha planteado es el poco número de islotes que va del 1 al 50 % de la masa total de islotes. Por otra parte se ha observado que el páncreas del lactante es una rica fuente de islotes de Langerhans y que su contenido de enzimas exócrinas es extremadamente bajo (25).

Teniendo en cuenta lo anterior, se han utilizado páncreas de cadáver de Lactante para ser colocados en pacientes adultos con el objeto de normalizar el metabolismo de carbohidratos. Sin embargo, aunque se han implantado en diferentes sitios (bolsa de músculo, intraperitonealmente, por infusión en vena porta) las glicemias si bien han disminuido, no ha sido posible suprimir por completo la insulina exógena.

Los estudios clínicos iniciales de alotrasplante de islotes demostraron que el procedimiento es seguro pero metabólicamente ineficaz. En un principio no fue posible aclarar si este procedimiento pudo mejorar con éxito la diabetes por problemas técnicos o por rechazo de injerto. El problema se ha aclarado en parte por la experiencia clínica reciente con otro trasplante de células de islotes en pacientes sometidos a pancreatectomía del 95% por pancreatitis crónica. Aunque hay muchos diferentes procedimientos quirúrgicos disponibles para el tratamiento de la pancreatitis crónica, la-

pancreatectomía total, o casi total, es la que alivia más -
constantemente el dolor.

Actualmente, hay pruebas que conducen a apoyar el con-
cepto de que podrán prevenirse las complicaciones secunda- -
rias a la Diabetes o detener su evolución, si es posible lo
lograr el control homeostático constante del metabolismo de -
los carbohidratos. También es obvio que la insulina exógena
no proporciona el control necesario. En contraste, el tras-
plante de segmentos pancreáticos y el trasplante de islotes-
permiten controlar la glicemia. Muchos problemas técnicos -
que acosaron a los intentos iniciales del trasplante pancreá-
tico segmentario o de la glándula íntegra se han superado -
hoy en día. Aún hay problemas relacionados con el manejo de
las secreciones exócrinas pancreáticas, pero los resultados-
iniciales con el drenaje intraperitoneal libre son estimulan-
tes.

Es posible que a través de más estudios se establezca
el autotrasplante de células de los islotes pancreáticos pa-
ra prevenir la Diabetes insulino-dependiente en pacientes -
que por razones médicas o traumáticas se sometan a pancrea-
tometomía del 95 %.

MATERIAL Y METODOS

Este trabajo de investigación se llevó a cabo en el Hospital General de Urgencias Balbuena dependiente de los Servicios Médicos del Departamento del Distrito Federal en el que se albergaron 12 perros adultos de sexo femenino, de diferente raza los cuales fueron vacunados contra la rabia, desinfectados y desparasitados.

Estos especímenes fueron donados por el Centro anti-rábico " Luis Pasteur " previo acuerdo por escrito.

Se llegó a la resolución de mantener a los animales bajo un período de observación mayor de 8 días y menor de 15. La justificación para este lapso de observación fue motivada teniendo en cuenta la falta de jaulas individuales por lo que nos vimos en la necesidad de mantenerlos en un bioterio-común, factor que en un momento dado pudiera provocar el contagio de un espécimen a otro de cualquier enfermedad aparente o no, que pudiese provocar resultados diversos o bien, actuar como una variable.

Afortunadamente, al transcurrir este lapso, la conducta de los sujetos de investigación fue normal no mostrando evidencia de enfermedad. Teniendo en cuenta lo anterior todos los animales fueron incluidos dentro del estudio.

Por otra parte, es de hacer mención que las tallas y los pesos no fueron uniformes llegando a pesar el mayor 17 - Kg y el menor 8 Kg con una media de 12.8 Kg. Las tallas va riaron desde 1.05 m de alzada, el mayor hasta 50 cm el menor con una media de 77 cm de alzada.

También es de hacer mención que el estado nutricional fue variable para cada espécimen tratando por nuestra parte de elevar las reservas calóricas de los más deficientes para que afrontara en mejores circunstancias tanto el acto quirúrgico como el posoperatorio inmediato y mediato.

El área quirúrgica donde se llevaron a cabo las inter venciones estuvo constituida por una mesa de operaciones con ciertas improvisaciones para sujetar al animal en la forma deseada previa aplicación de anestésicos por vía parenteral; una lámpara de 100 watts a la que se le aplicó un filtro para calor y no llegar a provocar daño a las vísceras expuestas y un equipo de material quirúrgico con todo lo necesario para la intervención en cada caso.

El proyecto se programó para utilizar colágenas pura pero dada la dificultad de conseguirla en nuestro medio se utilizó colagenasa con un 90 % de pureza asociada a restos de peptidasas principalmente.

El personal que intervino durante el proceso fue: Ci

rujano que efectuó la intervención abdominal; ayudante para la intervención quirúrgica; ayudante para la administración de anestesia; ayudante para la ejecución del método de obtención de los islotes; instrumentista y circulante del área de quirófano.

Una vez descartando que nuestros sujetos de investigación tuvieran alguna enfermedad, se les tomó glicemias prequirúrgicas que nos sirvieran como punto de referencia para controles posteriores. La glicemia en el perro es similar a la oscilando entre 90 y 130 mg % en ayuno.

Los resultados de las glicemias prequirúrgicas fueron:

Sujeto	Glicemia	Sujeto	Glicemia
1	110+	7	110+
2	110	8	90
3	98	9	98
4	110	10	120
5	130	11	90
6	90	12	110

Teniendo en cuenta las cifras anteriores no hubo obstáculo que se antepusiera a la intervención.

El abordaje quirúrgico fue sobre el abdomen superior, línea media y disección por planos hasta llegar a la cavidad abdominal. Se localizó el páncreas y se procedió a retirarlo en su totalidad cuidando de no comprometer la irrigación de otros sectores.

Es bien sabido que la pancreatomec-tomía debe ser minuciosa ya que si mantienen restos pancreáticos accidentalmente, pueden tener la capacidad de mantener la glicemia dentro de límites normales a pesar de ser muy pequeños dada la concentración tan elevada de islotes que contienen.

Obtenido el páncreas, se procedió al aislamiento de los islotes según el método de Mirkovitch y Campiche (1) que no es muy sofisticado y que se detalla a continuación:

METODO DE MIRKOVITCH Y CAMPICHE PARA LA OBTENCION DE ISLOTES DE LANGERHANS.

- 1.- Se prepara solución de Ringer Lactado a la cual se le agrega 1 mm de Na HCO₃ para elevar el pH a 7.5. (A esta solución algunos autores la reconocen como solución de Evans). Una vez realizado lo anterior se le adiciona 1 mg por ml de colagenasa.

Habiendo resecado la glándula se infiltra el conducto excretor y por punción directa del tejido pancreático -

utilizando de 20 a 30 ml de la solución aunque este volumen puede variar en relación al volumen del tejido a infiltrar.

- 2.- Se reseca el tejido infiltrado y se lava con solución de Ringer modificada (300 ml) sin colagenasa.
- 3.- Se cortan fragmentos de 2 a 4 mm y se deja en sedimentación durante 45 segundos.
- 4.- Se absorbe el sobrenadante y se agregan 5 mg de colagenasa por ml de tejido. Se agita durante 15 minutos a 37°C.
- 5.- Se agrega Ringer modificado hasta hacer un volumen de 100 ml y se centrifuga durante 5 minutos a 2 100 g.
- 6.- Se remueve el sobrenadante y nuevamente se agregan los mililitros necesarios para hacer un volumen de 100 ml y se vuelve a centrifugar.
- 7.- Se remueve el sobrenadante dejando un volumen de 5.5 a 14 ml al cual se le agrega Ringer modificado hasta hacer un volumen de 20 ml.
- 8.- Se preparan estos 20 ml en una jeringa los cuales contienen los islotes por trasplantar.

Una vez aislados estos conglomerados celulares se procedió a su infiltración en la pulpa esplénica según lo ya realizado por Kretschmer (2).

Posteriormente se procedió al cierre de la pared abdominal y se mantuvo al perro en observación tomándole muestras sanguíneas para determinar la glicemia cada 90 minutos según el método de Cameron y cols. (3) quien administra 2 ml de dextrosa al 25 % por Kg de peso en el posquirúrgico inmediato tomando las glicemias en los lapsos de tiempo ya mencionados.

Los resultados se analizan en el capítulo correspondiente.

RESULTADOS

Teniendo en cuenta que el acto quirúrgico es en sí una agresión, el organismo responde con títulos altos de glicemia debido en parte al bloqueo de la liberación de insulina por acción de las catecolaminas, amén de la acción diabética provocada por la cortisona liberada en circunstancias como ésta, por lo que el seguimiento de las glicemias trató de ser constante para así obtener valores significativos hasta el momento en que los sujetos fallecieron o en algunos pocos casos sobrevivieron al resto.

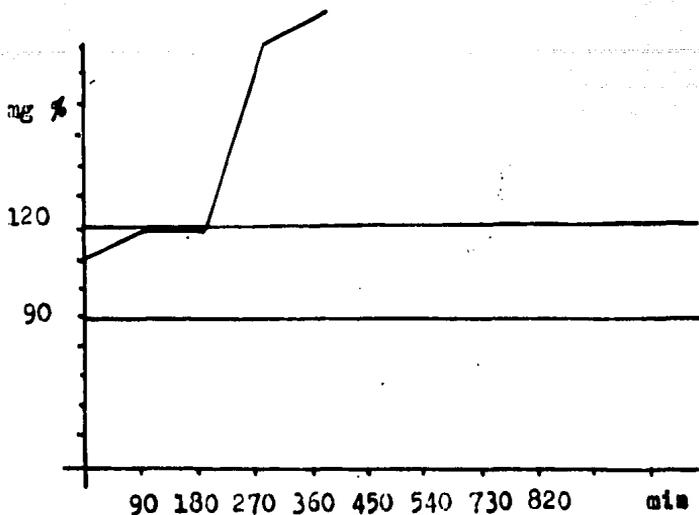
A continuación se muestran los valores glicémicos tabulados y graficados.

Las conclusiones se dan en el capítulo correspondiente.

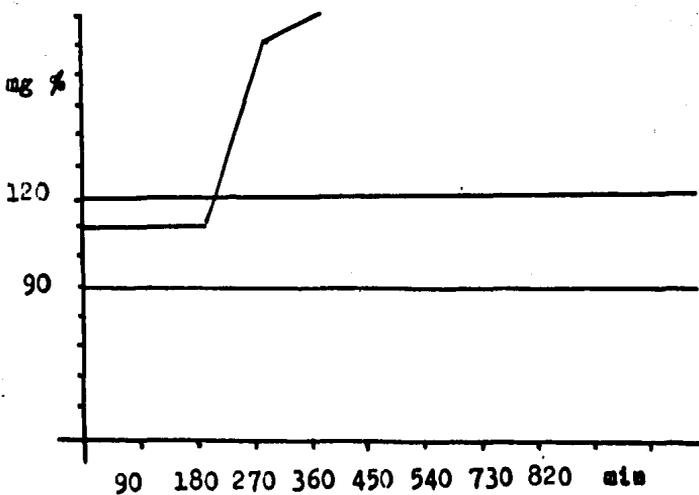
GLICEMIAS POSQUIRURGICAS TOMADAS CADA 90 MINUTOS
Y EXPRESADAS EN MILIGRAMOS POR CADA 100 MILILITROS.

	PRE	90'	180'	270'	360'	450'	540'	730'	
1	110	120	120	180	200				
2	110	110	110	170	180				
3	98	110	120	130	130	120	130	120	
4	110	120	160	160	180	210			
5	130	140	140	180	200				
6	90	90	90	120	150	180	200		
7	110	130	180	220					
8	90	100	100	130	140	110	110	100	110
9	98	140	160	200					
10	120	110	100	130	180	210			
11	90	100	100	110	140	130	200		
12	110	110	120	130	200				

CASO NUMERO 1

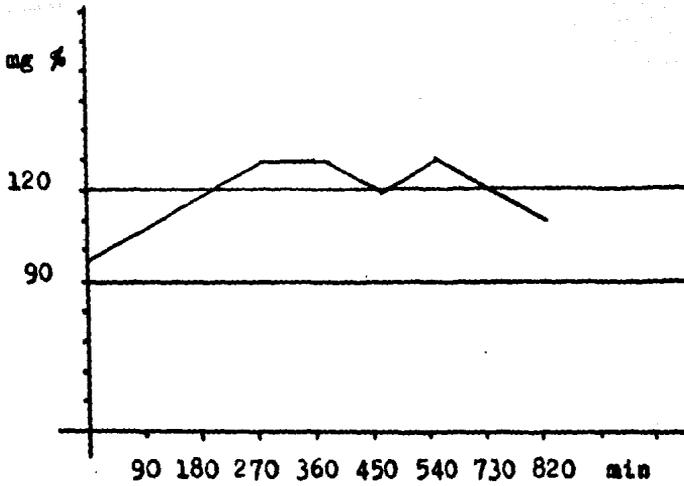


CASO NUMERO 2

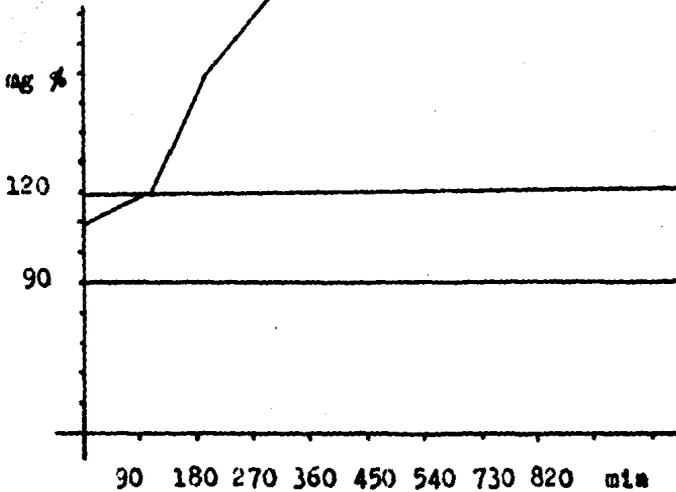


Caso 1 y 2: Ambos perros fallecidos en el posoperatorio inmediato con hiperglicemias de 200 y 180 mg % respectivamente.

CASO NUMERO 3



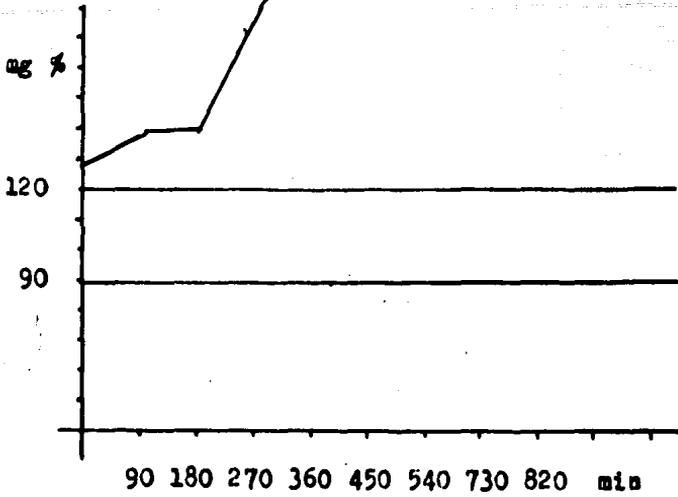
CASO NUMERO 4



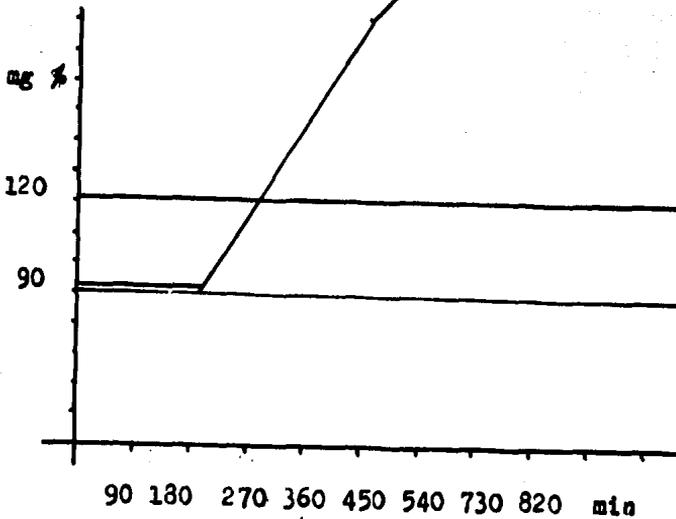
CASO 3: Perro que sobrevive más de 12 horas con glicemias dentro de límites normales para fallecer a las 40 horas - con hiperglicemia de 210 mg %.

CASO 4: Perro fallecido en el posoperatorio inmediato con hiperglicemia de 210 mg %.

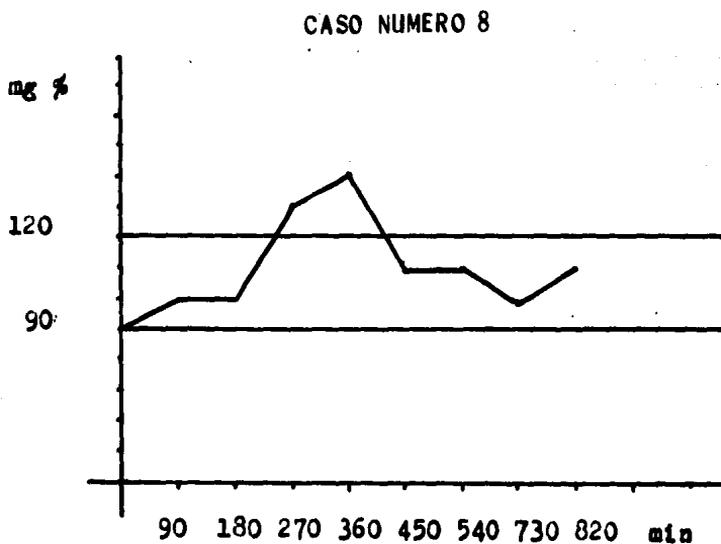
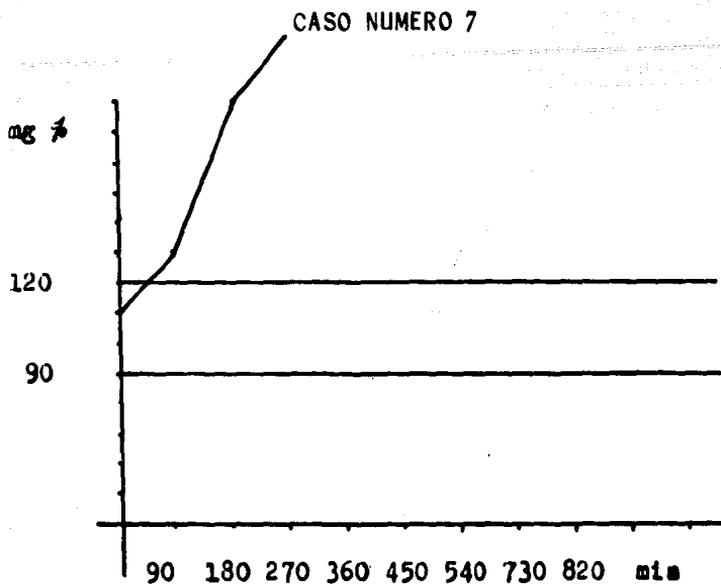
CASO NUMERO 5



CASO NUMERO 6



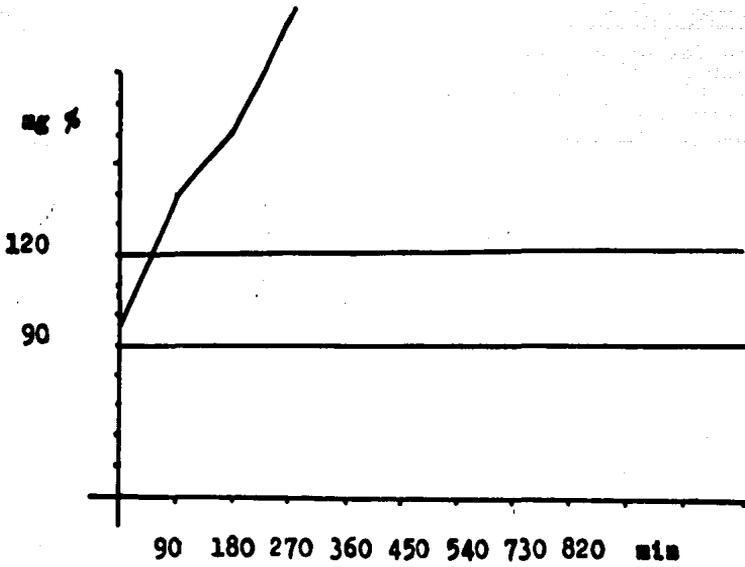
CASOS 5 y 6: Perros fallecidos a las 6 horas del posoperatorio con hiperglicemias de 200 mg %.



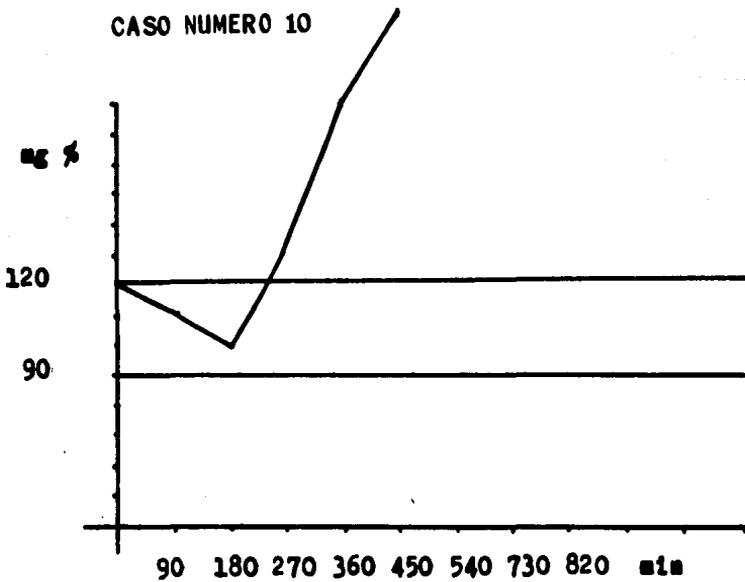
Caso 7: Perro fallecido en el posoperatorio inmediato con hiperglicemia de 220 mg %.

Caso 8: Perro que sobrevive más de 12 hrs. para fallecer a las 32 horas con hiperglicemia de 200 mg %.

CASO NUMERO 9

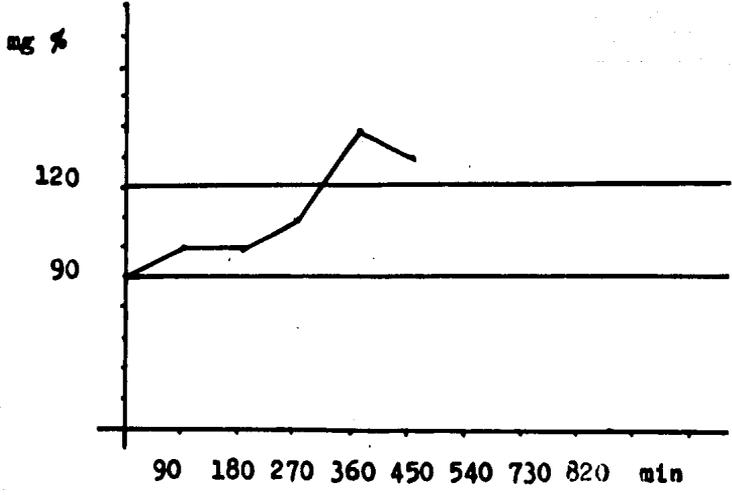


CASO NUMERO 10

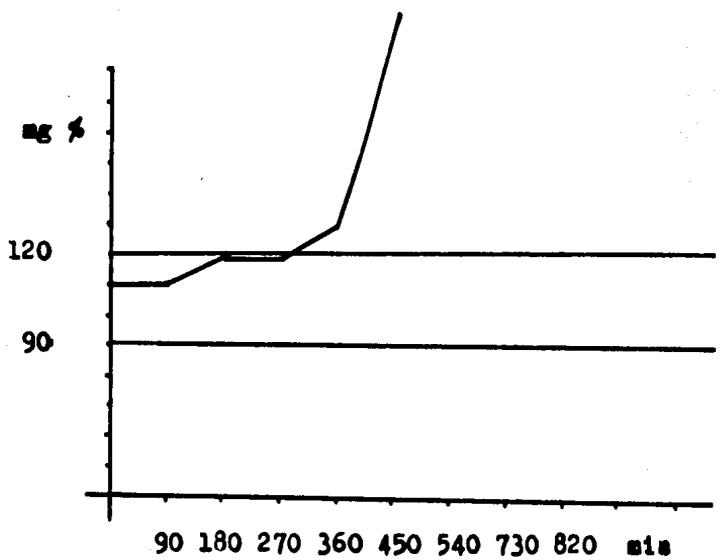


Casos 9 y 10: Ambos perros fallecidos en el posoperatorio inmediato con cifras de glicemia de 200 y 210 mg % respectivamente.

CASO NUMERO 11



CASO NUMERO 12



Caso 11 y 12: Ambos perros fallecidos con hiperglicemias de 130 y 200 mg % respectivamente.

DISCUSION

De los resultados obtenidos podemos deducir que el objetivo de la hipótesis no se cumplió en su totalidad teniendo en cuenta que sólo sobrevivieron más de 24 horas sólo dos perros lo que representa un 16 % a diferencia de un 84 % de mortalidad en el posoperatorio inmediato.

Esta cifra de mortalidad fue provocada evidentemente por la hiperglicemia que se presentó en los especímenes fallecidos como se ha podido ver en la tabla de glicemias; pudiendo descartar otro tipo de complicaciones como sepsis ya que el tiempo transcurrido entre la intervención y la muerte fue breve, o bien, el sangrado, ya que hubo el cuidado minucioso de realizar la hemostasia adecuada.

A diferencia de Mirkovitch y Campiche (1) que tuvieron una mortalidad de 10 %, otra de las causas de mortalidad en nuestro estudio puede ser la utilización de colagenasa impura asociada a residuos de peptidasa lo que en un momento dado pudo haber lesionado la membrana celular de los islotes de Langerhans.

Otros autores (13, 17, 19) han utilizado colagenasa impura pero la obtención de los islotes ha sido a partir del método de gradiente de densidad discontinua de Lindall y - -

cols. y que separa los restos fragmentarios tisulares por su diferente densidad y que produce una solución con mayor concentración de islotes potencialmente funcionales siendo entonces hasta el momento lo ideal para este tipo de experimentos aunque debido a su técnica tan sofisticada, desgraciadamente no fue posible obtenerla.

En relación al método es factible que la implantación del tejido a trasplantar no necesariamente sea el adecuado, reportándose mejores resultados por la inyección de los islotes a contra corriente sobre la vena esplénica. (11)

A pesar de que se han obtenido buenos resultados en otras áreas de trasplante (hígado, peritoneo, riñón, etc.) - se eligió el bazo debido a su rica irrigación y a que la pulpa esplénica puede contener los islotes en su totalidad en contraste con el método de inyección en el flujo venoso lo que puede provocar la pérdida de algunos islotes que pueden ser vitales para la regulación normal de los carbohidratos.

Considero que debe continuar la investigación en este tema ampliándolo con el sacrificio del animal en caso de sobrevida y el análisis microscópico del sitio de implantación para definir si el medio ambiente le es favorable al islote o no lo que se traduciría como cambios estructurales del mismo hasta la necrosis o ausencia en el sitio de implantación.

CONCLUSIONES

A pesar de la brevedad del estudio y del bajo número de animales operados, no se pueden dar conclusiones definitivas, ni aseverar que el método utilizado puede ser desechado.

A partir de la utilización de colagenasa con una pureza de un 90 % con residuos de peptidasas se obtuvieron resultados parciales. Con lo escueto y breve del estudio sí podemos hacer las siguientes consideraciones:

- 1.- La utilización de colagenasa impura puede conducir a la destrucción de los islotes o bien del sitio de implante.
- 2.- El fracaso en la implantación del tejido a trasplantar conduce a la muerte temprana por hiperglicemia sérica e hipoglicemia intracelular.
- 3.- El método de obtención de los islotes utilizado en este estudio permite la implantación de otros fragmentos tisulares que en un momento dado pueden provocar el daño del islote.
- 4.- El mejor método para la obtención de los islotes siguiendo hasta el momento el de Lindall que es por gradiente de densidad discontinua.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Mirkovitch, V., and Campiche, M: Succesful intraesplenic autotrasplantation of pancreatic tissue in totally pan--createctomized dogs. *Trasplantation*, 21: 265, 1976.
- 2.- Moskalewski, S: Isolation and culture of the islets of - Langerhans of the guinea pig. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 5: 324, 1965.
- 3.- Cameron, J.L. Mehigan, D.G.: Distal pancreattectomy and islet autotrasplantation for chronic pancreatitis. *Ann. Surg.* 63, 342 1970.
- 4.- De Jode, L.R. and Howard, J.M.: Studies in pancreatico--duodenal homotrasplantation. *Surg. Gynecol. Obstet.*, 114: 553, 1962.
- 5.- Najarian, J.S., Sutherland, D.E.R.: Isolation of human - islets of Langerhans for trasplantation. *Transplant. - - Proc.*, 7 (supl) 611, 1975.
- 6.- Lagardier, F., Lyons, G.W.,: Orthotopic allotrasplanta--tion of the pancreas. *Am. J. Surg.*, 113: 30, 1967.
- 7.- Rey G., Autotrasplante de islotes de Langerhans a hígado. *Cirugia y Cirujanos*. Vol 24, 322; 1984.
- 8.- Mehigan, D.G., Zuidema, G.D.: Pancreatic islet autotras--plantation: Results in dogs with chronic duct ligation.- *Am. J. Surg.*, 139: 170, 1980.

- 9.- Conolly, A.R. Steinberg, T.: Clinical experience with -
pancreaticoduodenal trasplantation. Arch. Surg, 106: -
489, 1973.
- 10.- Traeger, J., Dubernard, J.M.: Pancreatic trasplantation-
in man: A new method of pancreas preparation and results
on diabetes correction. Trasplant Proc., 11: 131, 1979.
- 11.- Ballinger, W.F. and Lacy, P.E.: Trasplantation of intact
pancreatic islets in rats. Surgery, 72: 175, 1972.
- 12.- Gray, B.N., and Watkins, E.: Prevention of vascular com-
plications of diabetes by pancreatic islet trasplanta- -
tion. Arch. Surg. 111: 254, 1976.
- 13.- Dubernard, J.M., Traeger, J.: A new method of prepara--
tion of segmental pancreatic grafts for trasplantation:-
Trials in dog and in man. Surgery, 84:663, 1978.
- 14.- Gayet, R., and Guillame, M: La regulation de la secre- -
tion interne pancreatique par un processus humorle, de--
montree par des trasplantation de pancreas. C. Rend. Soc.
Biol., 97: 1613, 1927.
- 15.- Kyriakides, G.V., Nuttal, F.Q.: Segmental pancreatic - -
trasplantation in pigs. Surgery, 85: 154, 1979.
- 16.- Groth, C.G., Andersson, A.: Trasplantation of fetal pan-
creatic microfragments via the portal vein to a diabetic
patient. Diabetes, 29 (Suppl. 1): 80, 1980.

- 17.- Brooks, J.R., and Gifford, G.H.: Pancreatic homotrasplantation. *Trasplant. Bull.*, 6: 100, 1959.
- 18.- Kelly, W.D., Lillehei, R.C.: Allotrasplantation of the pancreas and duodenum along with the kidney in diabetic-nephropathy. *Surgery*, 61: 827, 1967.
- 19.- Kemp, C.B., Knight, M.J.: Effect of the trasplantation site on the results of pancreatic islet isografts in diabetic rats. *Diabetologia*, 9: 486, 1973.
- 20.- Gliedman, m.I., Gold, M.: Clinical segmental pancreatic-trasplantation with- ureter- pancreatic duct anastomosis for exocrine drainage. *Surgery*, 74: 171, 1973.
- 21.- Cameron, J.L., Mehigan, D.G.: Metabolic studies following intrahepatic autotrasplantation of pancreatic islets grafts. *Surgery*, 87: 397, 1980.
- 22.- Lacy, P.E. and Kostianovski, M.: Method for the isolation of intact islets of Langerhans from the rats of pancreas. *Diabetes*. 16: 35, 1967.
- 23.- Lillehei, R.C., Simmons, R.L.: Pancreatico duodenal allotrasplantation: Experimental and clinical experiencie. - *Ann. Surg.*, 172: 405, 1970.
- 24.- Lindall, A.W., Steffes, M.: Immunoassayable content of sub-cellular fractions of rat islets. *Endocrinology*, 85: 218, 1969.