



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO.**

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO.**

**THE AMERICAN BRITISH COWDRAY
MEDICAL CENTER, I.A.P.
DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA GENERAL.**

**AUTOTRASPLANTE ESPLÉNICO PARCIAL, VIABILIDAD Y
RESPUESTA INMUNE. MODELO ANIMAL.**

**TESIS DE POSTGRADO QUE PARA
OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:**

CIRUGÍA GENERAL

PRESENTA:

DR. CLAUDIO ENRIQUE GOLFFIER ROSETE

**DIRECTOR DE TESIS:
DR. FERNANDO QUIJANO ORVAÑANOS**

**PROFESOR TITULAR:
DR. JORGE CERVANTES CASTRO**



MÉXICO, D.F.; SEPTIEMBRE 2006.



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 esta 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.

[Handwritten signature of Dr. Fernando Quijano Orvañanos]

**DR. FERNANDO QUIJANO ORVAÑANOS
CIRUJANO GENERAL
CENTRO MÉDICO ABC**



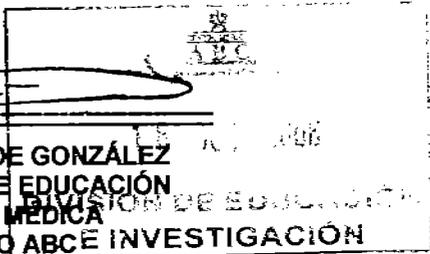
**DIVISIÓN DE ESPECIALIZACIÓN
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
U.N.A.M.**

[Handwritten signature of Dr. Jorge Cervantes Castro]

**DR. JORGE CERVANTES CASTRO
PROFESOR TITULAR DEL CIRUGÍA GENERAL
CENTRO MÉDICO ABC
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
FACULTAD DE MEDICINA UNAM**

[Handwritten signature of Dr. José J. Elizalde de González]

**DR. JOSÉ J. ELIZALDE DE GONZÁLEZ
JEFE DE LA DIVISIÓN DE EDUCACIÓN
E INVESTIGACIÓN MÉDICA
CENTRO MÉDICO ABC INVESTIGACIÓN
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
FACULTAD DE MEDICINA UNAM**



Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo reseccional.

NOMBRE: Claudia Goffie Rosset

FECHA: 24/10/02

FIRMA: PA Goffie Rosset

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer

**A TODOS LOS QUE
CONTRIBUYERON A REALIZAR MI
SUEÑO.
EN FORMA MUY ESPECIAL
A MIS PADRES.**

TABLA DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS	5
INTRODUCCIÓN	6
ANTECEDENTES	6
DEFINICIÓN DE LOS OBJETIVOS	17
HIPÓTESIS	18
MATERIAL Y MÉTODOS	18
CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN	18
DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	18
LUGAR Y DURACIÓN	19
VARIABLES	19
FASES DEL ESTUDIO	20
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	21
RIESGOS PREVISIBLES O PROBABLES	21
RECURSOS MATERIALES Y	22
TÉCNICA QUIRÚRGICA	22
CENTELLOGRAFÍA HEPATOESPLÉNICA	23
ANÁLISIS DE RESULTADOS	31
CONCLUSIONES	33
REFERENCIAS	34

INTRODUCCIÓN.

ANTECEDENTES.

Alexis Carrel en febrero 24 de 1908, realizó el primer autotrasplante esplénico en un perro amarillo "con pobre salud". En esa ocasión, posterior a la esplenectomía, el bazo fue lavado y perfundido en solución de Locke, después de 44 minutos, el bazo fue reemplazado ortotópicamente y la circulación reestablecida. En Junio del mismo año se le realizó una reexploración y "el órgano parecía normal". Ese Noviembre, después de un accidente el perro murió, "la histología del órgano autotrasplantado parecía normal (1)" (fig.1).



Fig. 1. A. Carrel (1877-1944)

Durante mucho tiempo se pensó que el bazo era un órgano superfluo que podía ser quitado sin ningún efecto colateral y que debía ser extirpado ante la menor lesión de su cápsula. Se estima que hasta hace aproximadamente 20 años se quitaron 10,000 bazos sanos por año en Alemania posteriores a trauma externo o interno (durante cirugía de colon, estómago, etc.) (2). Se han descrito muchas

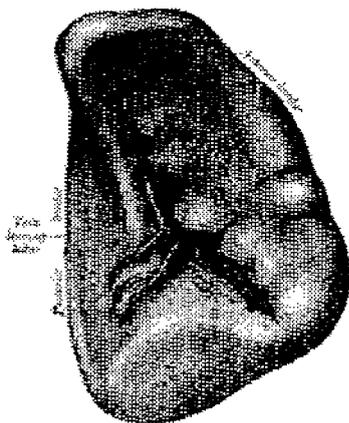


Fig. 3. Cara visceral del bazo.



Fig. 4. Sección transversal del bazo.
Muestra el tejido trabecular, la vena
esplénica y sus tributarias.

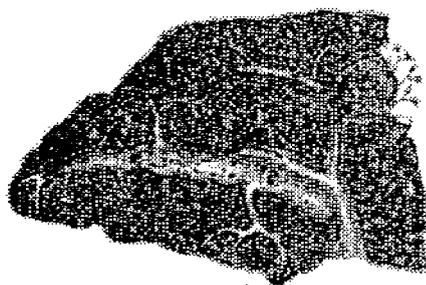


Fig. 5. Sección transversal del bazo. Muestra la arteria esplénica y sus
ramas.

Tomó muchas décadas aceptar el término de Sepsis Fulminante Postesplenectomía (SFPE), aunque King & Schumacker (3) describieron este síndrome hace más de 50 años. La SFPE se caracteriza por alta mortalidad, principalmente en niños a pesar de los grandes avances en las unidades de terapia intensiva (4,5).

La principal razón para esta sepsis es el neumococo, quien es típicamente dependiente de antígenos tipo 2 del linfocito T. Una respuesta inmune adecuada para estas bacterias depende de la zona marginal en el bazo (fig. 6) (6). Este compartimiento no se encuentra bien diferenciado antes de los 3 años de edad, ésta puede ser la razón por la cual existe una alta frecuencia de SFPE en niños menores (7). El papel crítico de células B en la zona marginal para la respuesta a antígenos T 1 y 2 se encuentra actualmente bien descrito (8).

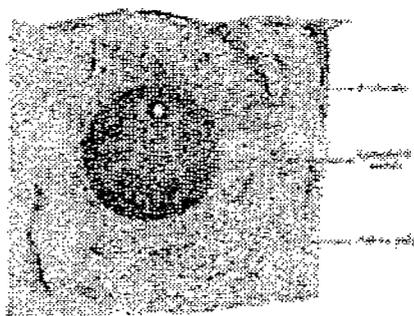


Fig. 6. Sección transversal de una porción del bazo. Muestra la pulpa roja, pulpa blanca y zona marginal.

Por lo tanto, el bazo tiene un papel central en muchas reacciones inmunológicas, principalmente donde los microorganismos y antígenos entran directamente al torrente sanguíneo, y por lo tanto la preservación del tejido esplénico debe ser prioritario después de trauma esplénico. Se han identificado variables importantes para decidir el manejo de estos pacientes en los cuales pueden existir lesiones no identificables o una laparotomía no terapéutica mortal e incrementar el riesgo de SFPE y muerte.

El principal aspecto que debe cuidar tanto el médico como el paciente después de esplenectomía es prevenir las infecciones por:

- H. Influenzae
- N. Meningitidis
- S. Pneumoniae
- H. Influenzae tipo B.

Algunas otras bacterias como E. Coli, S. Beta-hemolítico, S. Aureus y Pseudomona sp., sin olvidar la malaria (16). Leemans reporta que los pacientes después de esplenectomía tienen un elevado riesgo de presentar SFPE o sepsis relacionada por microorganismos principalmente encapsulados como el neumococo (31).

En cualquier caso estos pacientes deben ser vacunados. Además deben aplicarse antimicrobianos durante toda la vida, principalmente durante los primeros

2 años post-esplenectomía (15). Finalmente, el paciente debe llevar un calendario médico.

La profilaxis se basa en 3 principales aspectos:

- Educación del paciente
- Profilaxis inmune
- Profilaxis química.

Cualquiera de éstas no son suficientes para prevenir los altos riesgos de desarrollar sepsis. Cuando la esplenectomía es inevitable, el autotrasplante esplénico heterotópico parece la única alternativa para preservar el tejido esplénico.

El tejido auto trasplantado presenta una estructura similar al bazo normal y preserva la función inmune, tal como describe Marques (37). Exámenes serológicos experimentales sugieren que el bazo trasplantado posee la capacidad de formar anticuerpos específicos. Simonsen concluyó dando énfasis a la importancia del trasplante de bazo como una parabiosis en la cual puede ocurrir incompatibilidad tanto en donador como en receptor (1).

Partículas o rebanadas de tejido esplénico se regeneran cuando son colocadas en un reservorio en el epiplón mayor. Esta técnica es utilizada cuando el bazo no puede ser reparado. Diversos experimentos animales se han realizado

de acuerdo al tamaño o masa total de bazo que debe ser implantado y la construcción de un reservorio esplénico adecuado (18).

Existen distintas fases en las cuales el tejido esplénico es restaurado y regenerado, pero en la mayor parte de los estudios se han encontrado cicatrices y cantidad de tejido mucho menor a la implantada originalmente después de muchos años. La causa se atribuyó a la edad avanzada de los animales y la función del tejido implantado en éstos para funciones específicas como flujo sanguíneo y depuración bacteriana (18). Recientemente se ha demostrado que la reinervación se regenera en el autotrasplante y es dependiente de la edad (19), la regeneración de los elementos del estroma es crítica (20) y en contraste con conceptos previos, algunos linfocitos también sobreviven en medios avasculares, mayormente en fase necrótica antes de que la regeneración inicie. Experimentos subsiguientes se enfocaron en las fases de reconstrucción del tejido esplénico autotrasplantado, en el papel de las citocinas y quimocinas y cómo éstos son esenciales para la forma y función del bazo (22,23).

La fisiología y protección inmune que confiere el tejido esplénico regenerado se ha estudiado en detalle en humanos; su sola presencia no debe tomarse como garantía de protección (24,25). La función regenerada del tejido esplénico en humanos se encuentra actualmente bien documentada en series reportadas por distintos grupos desde hace años y resumidas en la literatura (24,

26-29). Por razones éticas estudios más detallados difícilmente pueden realizarse en humanos.

Todos estos datos pueden ser resumidos de la siguiente manera: la función de los compartimentos del bazo (pulpa roja, zona marginal y pulpa blanca) (fig. 6) puede ser restaurada después del autotrasplante esplénico, pero ni la función inmune ni la capacidad de depuración de este tejido regresan completamente a lo normal.

Existe una tendencia hacia una mayor regeneración en niños que en adultos. Para entender los mecanismos de regeneración y reestablecer la inmunidad celular y humoral, son necesarios más experimentos. Una situación inexplicable es la baja respuesta esplénica en distintas patologías gastrointestinales de la cual los clínicos deben preverse (30). El principal objetivo debe ser encaminado hacia la preservación del tejido esplénico *in situ* y la determinación de la regeneración de su función y capacidades en tejido autotrasplantado.

El valor del autotrasplante esplénico después de esplenectomía por trauma ha sido cuestionado. Se debe prestar atención especial a la restauración del sistema fagocítico mononuclear y su función, que parece ser similar a la de los individuos esplenectomizados. La presencia de anticuerpos específicos antineumococo puede mejorar la fagocitosis en bacterias opsonizadas en otros lugares del sistema fagocítico mononuclear como en el hígado (31).

Se trató de demostrar la capacidad de respuesta inmune humoral posterior a la administración de vacuna contra neumococo de polisacáridos después de haber autotrasplantado el bazo. Los títulos de anticuerpos alcanzados por ratas autotrasplantadas fueron similares a los logrados por ratas no autotrasplantadas (32), y las ratas esplenectomizadas sólo presentaron un leve incremento en el nivel de anticuerpos (33). Los títulos fueron mayores después de 3 días a la administración de la vacuna. Estudios inmunohistoquímicos mostraron la funcionalidad y estructura del tejido auto trasplantado, incluyendo una zona marginal intacta (34). Considerando la respuesta de anticuerpos antineumococo, el autotrasplante esplénico puede ser considerado para mejorar la respuesta humoral a la vacuna contra neumococo y contribuir a la protección contra SFPE.

El riesgo de septicemia en pacientes pediátricos postesplenectomía es aproximadamente del 1-5 % y puede alcanzar hasta el 25% en pacientes con alteraciones en el sistema retículo endotelial. El autotrasplante es una alternativa para preservar las funciones inmunológicas del bazo (35).

Se publicó un trabajo que incluyó a 20 niños con talasemia-b, durante un periodo de 2 años. Se determinó el número de transfusiones requeridas preoperatoriamente durante un año, midiendo niveles de C3, C4 e inmunoglobulinas IgM, IgG. Sólo 10 pt fueron esplenectomizados - autotrasplantados y el resto únicamente esplenectomizados. La viabilidad y función del tejido implantado fue evaluado clínicamente por incidencia de

infecciones generales, número de transfusiones requeridas, laparoscopia abdominal, biopsia y estudios inmunológicos. Después de un mínimo de 6 meses los pacientes fueron vacunados con vacuna contra neumococo polivalente y se determinaron niveles de IgG e IgM después de 6 semanas. El resultado fue que el número de transfusiones requeridas en ambos grupos disminuyó considerablemente. Un paciente presentó neumonía en el grupo esplenectomizados. La biopsia laparoscópica confirmó el patrón reticular del tejido implantado con agregados linfocíticos perivasculares. Todos los tejidos auto trasplantados fueron aceptados y por medio de esplenografía se mostró un aumento en niveles de C3, IgM e IgG en uno a 3 meses del postoperatorio y los niveles en estos pacientes aumentaron de 1.5 a 2 veces sus niveles de anticuerpos. Concluyeron que el papel del autotrasplante de bazo es importante en el manejo de niños con talasemia mayor. Esta técnica es simple, no presenta complicaciones graves ni aumenta significativamente el tiempo quirúrgico (35).

El autotrasplante esplénico tiene un papel crucial en la preservación de la función inmune del bazo en pacientes con cirrosis e hipertensión portal (36). En el Servicio de Cirugía General y Trasplantes del Hospital de Essen, Alemania, se eligieron a 20 pacientes con cirrosis hepática e hipertensión portal (19 hombres y una mujer), se dividieron de manera aleatoria en 2 grupos. A todos los pacientes se les practicó una cirugía tipo Sugiura. Se midieron niveles de inmunoglobulinas y anticuerpos. No se mostraron diferencias en mortalidad entre ambos grupos. Los niveles de inmunoglobulinas preoperatorios en ambos grupos fueron similares,

pero estos valores disminuyeron dramáticamente en los pacientes esplenectomizados después de 2 meses de la cirugía, manteniéndose estables en los pacientes sometidos al autotrasplante. Se mostró que el autotrasplante parcial de bazo puede preservar las funciones inmunológicas del bazo, como se mostró con los niveles de anticuerpos e inmunoglobulinas en pacientes con cirrosis hepática e hipertensión portal.

El implante esplénico autólogo parece ser la única alternativa para la preservación del tejido esplénico posterior a esplenectomía. Marques (38,40) evaluó la función del tejido implantado para realizar fagocitosis bacteriana en ratas tipo Wistar donde se practicó esplenectomía e implante de bazo en epiplón mayor. Después de 16 semanas se realizó inoculación de E. Coli y sólo 20 minutos posterior a esto los animales fueron sacrificados y se realizó estudio histopatológico del tejido implantado, de lo cual se reportó que existía gran similitud morfológica en el tejido implantado puesto que presentó pulpa blanca, pulpa roja y zona marginal, de igual forma se reportó que existieron agregados de macrófagos que contenían Gram negativos. Se observó angiogénesis adecuada, sin trombos o vasculitis, demostrando que ésta es una opción viable para preservar la función inmunológica del bazo. El mismo autor reportó un segundo experimento realizado en el mismo modelo animal donde se practicó esplenectomía y se realizó autotrasplante esplénico pero en esta ocasión inoculó E. coli marcada con Tc99, logrando mediciones por medicina nuclear de una gran

captación bacteriana en el tejido autotrasplantado, demostrando la viabilidad de dicho tejido en estas condiciones (39).

Algunos otros autores como Smith (42) enfatizan que como bien se conoce los pacientes esplenectomizados tienen un riesgo de presentar infecciones o SFPE. Algunos procedimientos como el autotrasplante esplénico parecen restaurar la función esplénica, aunque su función protectora contra estas infecciones permanece incierta. La respuesta inmune como la producción de anticuerpos no está bien comprobada tanto en modelos humanos como animales. En su estudio reportó que "a pesar de no ser igual la función fagocítica del tejido auto trasplantado sí confiere cierto grado protector a aquellos pacientes sometidos a éste procedimiento".

DEFINICIÓN DE LOS OBJETIVOS.

- Evaluar la efectividad del autotrasplante esplénico en zona vascularizada (ingle) de rata.
- Evaluar la viabilidad y función del tejido linfoide auto trasplantado.
- Obtener la certeza de la viabilidad de tejido linfoide auto trasplantado por medio de gammagrama esplénico.

HIPÓTESIS.

El desarrollo de este estudio tiene como finalidad demostrar la viabilidad y función del autotrasplante esplénico parcial en ingre de rata como una opción para la conservación del tejido linfoide en el organismo y así evitar el desarrollo de SFPE en niños o adultos con patologías congénitas o adquiridas, logrando mejorar la calidad y esperanza de vida de estos pacientes.

MATERIAL Y MÉTODOS.

TIPO DE ESTUDIO.

1. Original
2. Experimental en animales
3. Corte transversal.

UNIVERSO Y TAMAÑO DE LA MUESTRA.

Ratas Wistar hembras de 4 meses de edad y 250-300 gr de peso.

Total: 22 ratas; 36 implantes.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.

Inclusión.

- Rata Wistar hembra

- De aprox. 4 meses de edad
- Peso 250-300 gr.
- Sin patologías agregadas
- Vivas posterior al implante de bazo
- Vivas posterior a 14 semanas de observación
- Que no muestren cambios de comportamiento durante este periodo.

Exclusión.

- Ratas que presenten proceso infeccioso en periodo de observación.

LUGAR Y DURACIÓN.

***Modelo Animal:** Centro de Investigación y Capacitación Quirúrgica Karl-Storz.
Centro Médico ABC.

***Estudios de Medicina Nuclear:** Departamento de Radiología e Imagen.
Departamento de Medicina Nuclear. Centro Médico ABC.

***Duración aproximada:** 14 semanas.

VARIABLES.

*** Dependientes:**

- Viabilidad del bazo (por cada implante) durante el seguimiento (14 semanas) valorado por gammagrama.

- Mortalidad

*** Independiente:**

- Peso
- Cambio de peso
- Complicaciones de la cirugía.

FASES DE ESTUDIO.

FASE A:

- **GRUPO 1 (CONTROL):** (n= 4 ratas)

Este grupo será subdividido en grupo **1a y 1b.** (n = 2 ratas cada uno)

Los animales del grupo 1a no recibirán procedimiento alguno.

Los animales del grupo 1b se les realizarán laparotomías únicamente y cierres, sin procedimiento agregado.

- **GRUPO 2 (EXPERIMENTAL):** (n= 18 ratas)

Ratas sometidas a laparotomía con esplenectomía total. Se realizará implante parcial de bazo en ingles bilateralmente. Se verificará viabilidad y funcionalidad de tejido implantado por medicina nuclear.

FASE B.

Los animales del grupo 1a únicamente serán observados durante el tiempo predispuesto, no recibirán procedimiento.

Las ratas del grupo 1b serán sometidas a laparotomía sin realizar procedimientos agregados. Se observarán por 14 semanas y se realizará estudio de medicina nuclear con coloide marcado con ^{99m}Tc , para verificar viabilidad de tejido linfóide, el mismo será inyectado por vena cava inferior.

Las ratas del grupo 2 serán sometidas a laparotomía con esplenectomía total e implante parcial en ingle, colocando $\frac{1}{4}$ de la totalidad del bazo en cada ingle, serán observadas por 14 semanas y se realizarán estudios de medicina nuclear con coloide marcado con ^{99m}Tc para verificar viabilidad de tejido implantado, el radio fármaco será administrado por inyección directa en vena cava inferior.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

- Porcentaje de injertos viables.
- Porcentaje de injertos perdidos (muerte).

RIESGOS PREVISIBLES O PROBABLES.

Investigación sin riesgo.

RECURSOS MATERIALES Y TÉCNICA QUIRÚRGICA.

- Rata Albino hembra tipo Wistar (MT).
- Anestesia: Inhalado Halotano (hasta lograr sedación).
Intramuscular (IM) Ketamina 0.1 ml
Xylazina 0.04 ml
- Se infiltra anestésico local en línea media (Xylocaína).
- Se realiza asepsia y antisepsia con iodine solución.
- Incisión oblicua inguinal bilateral. Se disecciona por planos hasta identificar vasos femorales.
- Incisión línea media y disección por planos hasta cavidad abdominal.
- Se identifica bazo. Se realiza esplenectomía. Ligadura con seda 3-0.
- Se extrae bazo, se divide en 2 y sólo una mitad es utilizada. Se implanta la mitad en cada ingle (1/4 en cada ingle), previo machacamiento del mismo.
- Se cierra aponeurosis con puntos simples seda 3-0.
- Se cierra piel en línea media con puntos simples seda 3-0.
- Se cierran ingles en 2 planos con puntos simples seda 3-0.
- Se verifica frecuencia cardiaca y respiratoria.
- Se coloca rata bajo lámpara térmica.
- Fin del procedimiento.

CENTELLOGRAFÍA HEPATOESPLÉNICA EN ROEDORES.

PROTOCOLO DE ADQUISICIÓN DE IMÁGENES.

Se utiliza una gammacámara con cabezal (Starcam 3200 General Electric Medical System) y colimador pinhole. Se administran 500 microCi de sulfuro coloidal marcados con ^{99m}Tc , en un volumen de 1 ml intracava. Se recaban imágenes secuenciales y a los 30 minutos post inyección. La adquisición de imágenes estáticas se realiza con matriz de 256x256 y zoom 1.0, durante 10 minutos. Con una marca radioactiva se delimitarán extremidades y región hepática del roedor para centrar la imagen.

Posterior a la visualización del tejido ávido por el trazador (hígado, bazo y médula ósea), se utiliza la marca radiactiva para verificar que el sitio donde se observa captación en región inguinal coincida con el tejido esplénico implantado.

Finalmente se procede a verificar visualmente el sitio de implante.

RESULTADOS.

De un total de 22 animales que se operaron, los mismos se incluyeron en el estudio con los siguientes resultados:

Todos los roedores en los distintos grupos vivieron hasta la conclusión del protocolo. Ninguno de los animales presentó alguna patología/infección agregada y no mostraron algún cambio de comportamiento.

Se formaron los grupos según describe la metodología donde las 2 ratas del grupo 1a únicamente fueron observadas durante el periodo predispuesto de 14 semanas y no recibieron procedimiento logrando completar las 2 fases del estudio (tabla 1).

RATAS DEL GRUPO 1a

Fase A y B

Rata	Peso (gr.)	Cambio de peso (gr.)	Mortalidad	Complicación quirúrgica
1	267	+ 62	No	No se operó
2	275	+ 74	No	No se operó

Tabla 1. Resultados de grupo 1a durante las fase A y B.

Los 2 animales del grupo 1b recibieron laparotomías sin algún otro procedimiento agregado y se observaron durante el mismo periodo de tiempo, logrando completar la fase A del estudio (tabla 2).

RATAS DEL GRUPO 1b**FASE A**

Rata	Peso (gr.)	Cambio de peso (gr.)	Mortalidad	Complicación quirúrgica
3	262	+ 68	No	No
4	287	+ 89	No	No

Tabla 2. Resultados de grupo 1b, fase A.

Para el grupo 2 (n=18), las ratas fueron esplenectomizadas según técnica antes descrita y autotrasplantadas a nivel inguinal bilateral (zona vascularizada) con $\frac{1}{4}$ del total del volumen esplénico total en cada ingle según protocolo, realizando un total de 36 implantes, siendo observadas durante el periodo predispuesto (tabla 3). Se finalizó la fase A del estudio.

RATAS DEL GRUPO 2

FASE A

Rata	Peso (gr.)	Cambio de peso (gr.)	Mortalidad	Complicación quirúrgica
5	275	+ 72	No	No
6	268	+ 70	No	No
7	281	+ 84	No	No
8	288	+ 87	No	No
9	264	+ 69	No	No
10	269	+ 68	No	No
11	279	+ 74	No	No
12	268	+ 70	No	No
13	274	+ 76	No	No
14	278	+ 81	No	No
15	284	+ 89	No	No
16	283	+ 87	No	No
17	264	+ 64	No	No
18	279	+ 82	No	No
19	285	+ 91	No	No
20	275	+ 68	No	No
21	264	+ 66	No	No
22	289	+ 81	No	No

Tabla 3. Resultados de grupo 2, fase A.

Para la fase B del estudio los animales completaron el periodo de observación y se obtuvieron los resultados siguientes:

Las ratas del grupo 1a, no recibieron procedimiento alguno, permanecieron vivas durante 14 semanas, no presentaron infección o alteración en su comportamiento y fueron observadas logrando completar la fase B del estudio (tabla 1).

Los 2 roedores del grupo 1b lograron completar vivos el periodo predeterminado sin patología agregada ni alteración en su comportamiento, se realizó el estudio de medicina nuclear con inyección del radio fármaco a nivel de vena cava inferior evidenciando adecuada captación del trazador a nivel de tejido hepático y esplénico (tabla 4) y (fig. 7).

RATAS DEL GRUPO 1b

FASE B

Rata	Periodo observación (14 sem.)	Infección o cambio comporta- miento	Centellografía (positiva / negativa)
3	Viva	No	positiva
4	Viva	No	positiva
	100 %	0 %	100 %

Tabla 4. Resultados de grupo 1b, fase B.



Fig. 7. Imagen de Centellografía. Rata del grupo 1b. Muestra el tejido ávido por el radio fármaco a nivel esplénico y hepático.

Las ratas del grupo 2 de igual forma completaron vivas el periodo de observación, sin mostrar patología agregada ni alteración en su comportamiento.

Se realizó estudio de medicina nuclear colocando la inyección del radio fármaco a nivel de vena cava inferior logrando captación del trazador a nivel de

tejido hepático y tejido esplénico auto trasplantado en región inguinal, tal como se muestra en las figuras (tabla 5) (fig. 8 y 9).

RATAS DEL GRUPO 2

FASE B

Periodo observación (14 sem.)	Infección o cambio comportamiento	Centellografía por implante (positiva / negativa)
100% Vivas	Ninguna	100% positivas en ambas ingles

Tabla 5. Resultados de grupo 2, fase B.

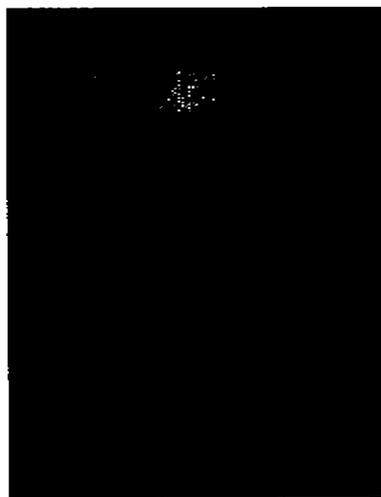


Fig. 8. Imagen de Centellografía. Roedor del grupo 2. Muestra el tejido ávido por el trazador en tejido hepático y a nivel inguinal bilateral (áreas del implante).

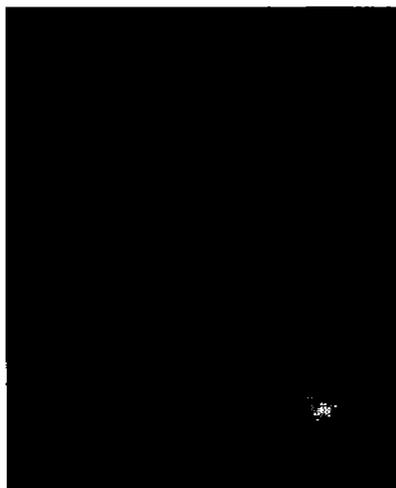


Fig. 9. Imagen de Centellografía. Roedor del grupo 2. Muestra el tejido ávido por el trazador en tejido hepático, a nivel inguinal bilateral (áreas del implante) y en sitio de inyección del trazador (vena cava).

Posterior a reporte positivo del tejido ávido por el trazador en estudio de medicina nuclear, se corroboró la presencia de tejido esplénico auto trasplantado explorando las zonas de implante evidenciando en todas ellas su existencia (tabla 6).

RATAS DEL GRUPO 2

INSPECCION VISUAL SITIO IMPLANTE

<p>100% de las Ratas</p>	<p>Con presencia de tejido esplénico implantado presente por centellografía en ambas ingles.</p>
-------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Tabla 6. Inspección visual del sitio de implante posterior a reporte positivo en Centellografía.

ANÁLISIS DE RESULTADOS.

Todos los roedores operados fueron incluidos en el protocolo (n=22) logrando vivir hasta la conclusión del mismo. Ninguno de los animales presentó alguna patología/infección agregada y no mostraron algún cambio de comportamiento.

Conforme a protocolo se formaron los distintos grupos. Para el grupo 1a (n=2), roedores que no recibieron procedimiento y se mantuvieron únicamente en periodo de observación durante el plazo predispuesto, 14 semanas, no presentaron cambio de comportamiento, patología/infección, logrando completar las 2 fases del estudio satisfactoriamente.

Para los animales del grupo 1b (n=2), quienes recibieron laparotomías sin algún otro procedimiento agregado, se mantuvieron vivas durante el periodo establecido, sin presentar patología/infección, logrando completar las 2 ratas la fase A del estudio.

Posteriormente las mismas fueron sometidos a estudio de centellografía hepatoesplénica, según técnica descrita, logrando adecuada captación del trazador a nivel hepático y esplénico en ambos animales; ello se traduce en la adecuada tolerancia del roedor al mismo y corrobora la sensibilidad del estudio de medicina nuclear y del radio fármaco al ser aplicado en este modelo animal.

Se concluyeron las 2 fases del estudio en este grupo sin mortalidad, con resultados positivos del 100% al estudio de medicina nuclear.

Para el grupo 2 (n=18), ratas esplenectomizadas y autotrasplantadas a nivel inguinal bilateral, se realizaron un total de 36 implantes; la totalidad de las mismas logró completar satisfactoriamente la fase A del estudio durante el periodo establecido de 14 semanas, sin mostrar patología/infección, alteración en su comportamiento, complicación quirúrgica, ni mortalidad, por lo que concluyeron el 100% de las mismas la primera fase.

Se inició la segunda fase del estudio en este grupo, realizando centellografía hepatoesplénica. Se mostró la adecuada captación del radio fármaco a nivel hepático y en tejido esplénico autotrasplantado a nivel inguinal bilateral con 100% de los implantes positivos (36 implantes).

Se verificó visualmente la presencia de tejido esplénico auto trasplantado posterior a resultado positivo de centellografía, logrando identificar el 100% de los implantes (36 implantes) en zonas relacionadas con captación del radiotrazador.

Se lograron 100 % de los injertos viables y funcionales y nulos injertos perdidos.

CONCLUSIONES.

Se demostró la viabilidad y función del auto trasplante esplénico parcial en zona vascularizada (ingle) de rata como una opción para la conservación del tejido linfoide en el organismo.

Deben realizarse más estudios para evaluar de manera precisa la función fagocítica y el grado protector que pudiera conferir el tejido auto trasplantado a aquellos pacientes sometidos a éste procedimiento y con ello evitar el desarrollo de SFPE en niños y adultos con patologías congénitas o adquiridas, logrando mejorar la calidad y esperanza de vida.

REFERENCIAS.

- 1.- Norman J, Covelli V. Transplantation of the Spleen. *Ann of Int Medicine* 1968; 68: 700-4
- 2.- Reinhard P. Regeneration of autotransplanted splenic fragments: basic immunological and clinical relevance 1999; 117: 423-4
- 3.- Leemans R, Harms G, Rijkers GT, Timens W. Spleen autotransplantation provides restoration of functional splenic lymphoid compartments and improves the humoral immune response to pneumococcal polysaccharide vaccine. *Clin Exp Immunol* 1999; 117: 596-604.
- 4.- King H & Shumacker H. Splenic studies: I. Susceptibility to infection after splenectomy performed in infancy. *Ann Surg* 1952; 136:239-42.
- 5.- Cullingford GL, Watkins DN, Watts ADJ, Mallon DF. Severe late postsplenectomy infection. *Br J Surg* 1991; 78:716-21.
- 6.- Holdsworth RJ, Irving AD, Cuschieri A. Postsplenectomy sepsis and its mortality rate: actual versus perceived risks. *Br J Surg* 1991; 78:1031-8.
- 7.- Kraal G, Hart HT, Meelthuisen C, Venneker G, Claassen E. Marginal zone macrophages and their role in the immune response against T-independent type 2 antigens: modulation of the cells with specific antibody. *Eur J Immunol* 1989; 19:675-80.
- 8.- Timens W, Boes A, Rozeboom-Uiterwijk T, Poppema S. Immaturity of the human splenic marginal zone in infancy. Possible contribution to the deficient infant immune response. *J Immunol* 1989; 143:3200-6.

- 9.- Spencer J, Perry ME, Dunn WD. Human marginal-zone B cells. *Immunol Today* 1998; 19:421-6.
- 10.- Steiniger B, Barth P, Herbst B, Hartnell A, Crocker PR. The species-specific structure of microanatomical compartments in the human spleen: strongly sialoadhesin-positive macrophages occur in the perifollicular zone, but not in the marginal zone. *Immunology* 1997; 92:307-16.
- 11.- Hazlewood M & Kumararatne DS. The spleen? Who needs it anyway? *Clin Exp Immunol* 1992; 89:327-9.
- 12.- Pabst R. The spleen in lymphocyte migration. *Immunol Today* 1988; 9:43-45.
- 13.- Harrington WJ & Harrington TJ. Is splenectomy an outmoded procedure? *Adv Intern Med* 1990; 35:415-40.
- 14.- Feliciano PD, Mullins RJ, Trunkey DD, Crass RA, Beck JR, Helfand M. A decision analysis of traumatic splenic injuries. *J Trauma* 1992; 33:340-8.
- 15.- Velanovich V & Tapper D. Decision analysis in children with blunt splenic trauma: the effects of observation, splenorrhaphy, or splenectomy on quality-adjusted life expectancy. *J Pediatr Surg* 1993; 28:179-85.
- 16.- Working Party of the British Committee for Standards in Haematology Clinical Haematology Task Force. Guidelines for the prevention and treatment of infection in patients with an absent or dysfunctional spleen. *Br Med J* 1996; 312:430-4.
- 17.- Wyler DJ. Splenic functions in malaria. *Lymphology* 1983; 16:121-7.
- 18.- Ambrosino DM, Lee MYC, Chen D, Shamberger RC. Response to *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccine in children undergoing splenectomy. *J Pediatr Surg* 1992; 27:1045-8.

- 19.- Pabst R, Westermann J, Rothkötter HJ. Immunoarchitecture of regenerated splenic and lymph node transplants. *Int Rev Cytol* 1991; 128:215-60.
- 20.- Westermann J, Michel S, Lopez-Kostka S *et al* Regeneration of implanted splenic tissue in the rat: re-innervation is host age-dependent and necessary for tissue development. *J Neuroimmunol* 1998; 88:67-76.
- 21.- Leitner W, Bergmann ES, Thalhamer J. Regeneration of splenic stromal elements. *Res Exp Med* 1994; 194:221-30.
- 22.- Westermann J & Pabst R. Autotransplantation of the spleen in the rat: donor leukocytes of the splenic fragment survive implantation to migrate and proliferate in the host. *Cell Tissue Res* 1997; 287:357-64.
- 23.- Ngo VN, Komer H, Gunn MD *et al* Lymphotoxin α/β and tumor necrosis factor are required for stromal cell expression of homing chemokines in B and T cell areas of the spleen. *J Exp Med* 1999; 189:403-12.
- 24.- Tanaka H, Hataba Y, Saito S, Fukushima O, Miyasaka M. Phenotypic characteristics and significance of reticular meshwork surrounding splenic white pulp of mice. *J Electron Microsc Tokyo* 1996; 45:407-16.
- 25.- Holdsworth RJ. Regeneration of the spleen and splenic autotransplantation. *Br J Surg* 1991; 78:270-8.
- 26.- Timens W & Leemans R. Splenic autotransplantation and the immune system. Adequate testing required for evaluation of effect. *Ann Surg* 1992; 215:256-60.
- 27.- Henneking K, Müller C, Franke F, Becker H, Schwemmler K. Spätergebnisse der heterotopen Autotransplantation von Milzgewebe nach traumatischer

Milzruptur im Kindesalter. *Chirurg* 1994; 65:457-68.

28.- Weber T, Hanisch E, Baum RP, Seufert RM. Late results of heterotopic autotransplantation of splenic tissue into the greater omentum. *World J Surg* 1998; 22:883-9.

29.- Leemans R, Beekhuis H, Timens W, The TH, Klasen HJ. Fc-receptor function after human splenic autotransplantation. *Br J Surg* 1996; 83:543-6.

30.- Pisters PWT & Pachter HL. Autologous splenic transplantation for splenic trauma. *Ann Surg* 1994; 219:225-35.

31.- Muller AF & Toghill PJ. Hyposplenism in gastrointestinal disease. *Gut* 1995; 36:165-7.

32.- Cervantes J. Conceptos modernos en manejo de trauma esplénico. *Rev Cir Gral.* 1986;6:138.

33.- Cervantes J, Rojas G. Cirugía conservadora de trauma esplénico. *Rev Cir Gral.* 1985;53-6:251-9.