

Autotrasplante esplénico parcial, viabilidad y respuesta inmune. Modelo animal

*Partial splenic autotransplantation, viability and immune response.
Animal model*

Dr. Claudio Enrique Golffier Rosete, Dr. Fernando Quijano Orvañanos

Resumen

Objetivo: Evaluar la efectividad, viabilidad y función del autotrasplante esplénico en zona vascularizada (ingle) de rata, corroborando su viabilidad por medio de gammagrama hepatoesplénico.

Diseño: Experimental en animales, prospectivo, longitudinal.

Sitio: Unidad de cirugía experimental, Centro Médico ABC.

Análisis estadístico: Porcentajes como medida de resumen para variables cualitativas.

Material y métodos: Ratas Wistar hembras de 4 meses de edad y 250-300 g de peso. (Total: 22 ratas; 36 implantes). Se formaron grupos control y experimental, realizándose laparotomías, esplenectomías e implantes bilaterales inguinales. Al término de 14 semanas se realizó gammagrama hepatoesplénico.

Resultados: En los 22 animales operados se completó el protocolo en todos, sin mostrar, después del periodo de observación, ningún dato de infección o cambio en el comportamiento. Los 36 implantes mostraron una adecuada captación del radiofármaco en el gammagrama hepatoesplénico, lográndose identificar el 100% de implantes.

Conclusiones: Se demostró la viabilidad y función del autotrasplante esplénico en rata como una opción para la conservación del tejido linfoide en el organismo.

Palabras clave: Autotrasplante, trasplante, bazo.
Cir Gen 2007;29:207-212

Abstract

Objective: To assess the efficacy, viability, and function of spleen autotransplantation in the vascularized region (inguinal) of the rat, corroborating its viability through hepatosplenic gammagraphy.

Design: Experimental in animals, prospective and longitudinal.

Setting: Experimental surgery unit, ABC Medical Center.

Statistical analysis: Percentages as summary measures for qualitative variables.

Material and methods: Wistar female rats, 4-month-old, 250-300 g weight. A total of 22 rats were subjected to 36 transplants. A control and an experimental group were formed, we performed laparotomies, splenectomies and bilateral inguinal implants. At the end of 14 months, a hepatosplenic gammagram was taken.

Results: The protocol was completed in all 22 animals, without these showing any infection or behavioral changes. All 36 implants revealed a good uptake of the radio-pharmaceutical agent as assessed with hepatosplenic gammagraphy, allowing for the identification of 100% of the implants.

Conclusions: The viability and function of the autologous splenic implant in rats were demonstrated as an option to preserve the lymphoid tissue in the organism.

Key words: Spleen, autologous transplant, transplant.
Cir Gen 2007;29:207-212

Centro Médico ABC

Recibido para publicación: 25 enero 2007

Aceptado para publicación: 20 agosto 2007

Correspondencia: Dr. Claudio Enrique Golffier Rosete. Sur 136 Núm. 116 Consultorio 201. Col. Las Américas. México, D.F. 01120.
Tel. (+52-55) 5273-6615. Radio: 2581-3399 clave 55-5414-0659. claudiogolffier@yahoo.com

Introducción

Alexis Carrel, en febrero de 1908, realizó el primer autotrasplante esplénico en un perro amarillo "con pobre salud". En esa ocasión, el bazo fue lavado y perfundido en solución de Locke, reemplazado ortotópicamente y la circulación reestablecida. Después de un accidente, el perro murió, "la histología del órgano autotrasplantado parecía normal".¹

Durante mucho tiempo se pensó que el bazo era un órgano superfluo y que podía ser quitado sin ningún efecto colateral ante la menor lesión. Actualmente el manejo conservador del trauma cerrado con lesión esplénica en pacientes hemodinámicamente estables se ha convertido en el procedimiento de elección, una evaluación adecuada en estos pacientes parece no requerir esplenectomía y tener evolución favorable.^{2,3}

Tomó muchas décadas aceptar el término de sepsis fulminante postesplenectomía (SFPE), aunque King y Schumacker⁴ describieron este síndrome hace más de 50 años; la SFPE se caracteriza por alta mortalidad, principalmente en niños y adultos mayores. 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.⁵⁻⁹ 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.¹⁰⁻¹² Por lo tanto la preservación del tejido esplénico debe ser prioritaria.¹³⁻¹⁷

El autotrasplante parece ser la única alternativa para preservar las funciones inmunológicas del bazo.¹⁸⁻²⁷ Esta terapéutica toma un gran valor posterior a requerirse esplenectomía por trauma o donde la función inmune del bazo en pacientes con cirrosis e hipertensión portal es prioritaria.^{28,29}

Por lo anterior, el desarrollo de este estudio tiene como finalidad demostrar la viabilidad y función del autotrasplante esplénico parcial en ingle de rata como una opción para la conservación del tejido linfoide en el organismo y así evitar el desarrollo de SFPE. Los objetivos a estudiar fueron: 1. Evaluar la efectividad del autotrasplante esplénico en zona vascularizada (ingle) de rata. 2. Evaluar la viabilidad y función del tejido linfoide autotrasplantado. 3. Obtener la certeza de la viabilidad de tejido linfoide autotrasplantado por medio de gammagrama esplénico.

Material y métodos

Se realizó un estudio prospectivo, longitudinal, experimental en 22 ratas Wistar hembras de 4 meses de edad y 250-300 g de peso, realizando un total de 36 implantes en el Centro de Investigación y Capacitación Quirúrgica Karl-Storz, Centro Médico ABC, durante 14 semanas, con participación del departamento de radiología e imagen y el departamento de medicina nuclear, Centro Médico ABC.

Criterios de inclusión: Todas las ratas que sobrevivieron el plazo establecido (14 semanas) y que no pre-

sentaron alguna enfermedad, datos de infección o mortalidad, cambios en comportamiento.

Criterios de exclusión: Todas aquellas ratas que no cumplieran los criterios de inclusión.

Las variables a estudiar fueron:

Dependientes: 1. Viabilidad del bazo (por cada implante) durante el seguimiento (14 semanas) valorado por gammagrama hepatoesplénico. 2. Mortalidad.

Independiente: 1. Peso, 2. Cambio de peso, 3. Complicaciones de la cirugía.

Se dividieron en los siguientes grupos:

Grupo 1 (Control): (n = 4 ratas). Este grupo se subdividió en grupo 1a y 1b (n = 2 ratas cada uno) los animales del grupo 1a no fueron sometidos a procedimiento alguno.

A los animales del grupo 1b se les realizó laparotomía únicamente y cierre, sin procedimiento agregado. Se observaron por 14 semanas y se realizó estudio de medicina nuclear con coloide marcado con "99mTc" (radiofármaco), para verificar viabilidad de tejido linfoide, el cual fue inyectado por vena cava inferior.

Grupo 2 (Experimental): (n = 18 ratas). En este grupo las ratas fueron sometidas a laparotomía con esplenectomía total. Se realizó implante colocando ¼ de la totalidad del bazo en cada ingle, previo machacamiento del mismo, se observaron por 14 semanas y se realizó estudio de medicina nuclear con radiofármaco con "99mTc" para verificar viabilidad de tejido implantado, el radiofármaco se administró por inyección directa en vena cava inferior.

El protocolo de adquisición de imágenes fue de la siguiente manera: Se utilizó una gammacámara con cabezal (Starcam 3200 General Electric Medical System) y colimador pinhole. Se administró 500 microCi de sulfuro coloidal marcados con "99mTc", en un volumen de 1 ml, intracava. Se recabaron imágenes secuenciales y a los 30 minutos postinyección. La adquisición de imágenes estáticas se realizó con matriz de 256 x 256 y zoom 1.0, durante 10 minutos. Con una marca radiactiva se delimitaron extremidades y región hepática del roedor para centrar la imagen. Posterior a la visualización del tejido ávido por el radiofármaco (hígado, bazo y médula ósea), se utiliza la marca radiactiva para verificar que el sitio donde se observa captación en región inguinal coincide con el tejido esplénico implantado.

Finalmente se verificó visualmente el sitio de implante por medio de exploración quirúrgica de la región inguinal.

El análisis estadístico se realizó por medio de porcentajes como medida de resumen para variables cuantitativas.

Los animales fueron manejados de acuerdo a los lineamientos nacionales e internacionales, aceptados en la NOM-062-ZOO-1999.

Resultados

Los 22 animales que se operaron 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 enfermedad o infección agregada y no mostraron cambios de comportamiento.

Los resultados detallados del grupo 1 (1a y 1b) se encuentran en el **cuadro I y II**.

Para el grupo 2 ($n = 18$), se realizó un total de 36 implantes, siendo observadas durante el periodo pre-dispuesto (**Cuadro III**).

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

Se realizó el estudio de medicina nuclear con inyección del radiofármaco a nivel de vena cava inferior en los dos roedores del grupo 1b, evidenciando adecuada captación del radiofármaco a nivel de tejido hepático y esplénico (**Cuadro IV y figura 1**).

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

Cuadro I.
Resultados del grupo 1a.

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

Ratas del grupo 1a

Fase A y B

Cuadro II.
Resultados del grupo 1b.

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

Ratas del grupo 1b

Fase A

Cuadro III.
Resultados del grupo 2.

Rata	Peso (g)	Cambio de peso (g)	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

Ratas del grupo 2

Fase A

Cuadro IV.
Resultados del grupo 1b, gammagrama hepatoesplénico.

Rata	Periodo observación (14 sem)	Infección o cambio comportamiento	Gammagrama hepatoesplénico (positiva/negativa)
3	Viva	No	positiva
4	Viva 100%	No 0%	positiva 100%

Ratas del grupo 1b



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

Se realizó estudio de medicina nuclear inyectando el radiofármaco a nivel de vena cava inferior, logrando captación del radiofármaco a nivel de tejido hepático y tejido esplénico autotrasplantado en región inguinal, tal como se muestra en las **figuras 2 y 3 y cuadro V**.

Posterior a reporte positivo del tejido ávido por el radiofármaco, en estudio de medicina nuclear, se corroboró la presencia de tejido esplénico autotrasplantado, explorando quirúrgicamente las zonas de implante e identificando en todas ellas el 100% de los implantes (36 implantes) en zonas relacionadas con captación del radiofármaco.

Discusión

El presente estudio demostró la viabilidad y función del autotrasplante esplénico parcial en una zona vas-



Fig. 2. Imagen de gammagrama hepatoesplénico. Roedor del grupo 2. Muestra el tejido ávido por el radio-fármaco en tejido hepático y a nivel inguinal bilateral (áreas del implante).

phic.com

cularizada (ingle) de rata, como una opción para la conservación del tejido linfoide en el organismo.

Estos resultados, reproducidos en el humano (pacientes pediátricos y adultos mayores), pueden traducirse en el beneficio de la conservación de tejido linfoide y con ello dotarnos de la capacidad de contraponernos a infecciones por organismos encapsulados y evitar la SPFE que, de acuerdo a la literatura mundial, a pesar de los avances científicos, el alcance de las unidades



Fig. 3. Imagen de gammagrama hepatoesplénico. Roedor del grupo 2. Muestra el tejido ávido por el radio-fármaco en tejido hepático, a nivel inguinal bilateral (áreas del implante) y en sitio de inyección del trazador (vena cava).

de terapia intensiva, la producción de antimicrobianos de última generación y el adecuado abordaje médico, continúa siendo una entidad que conlleva un porcentaje de morbilidad elevado, que bien podría disminuir y, en un esfuerzo ambicioso, hasta dejar de ser una patología mortal.

Deben realizarse más estudios para evaluar de manera precisa la función fagocítica y el grado protector que pudiera conferir el tejido autotrasplantado en aquellos pacientes sometidos a este 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.

Por lo tanto, podemos concluir que el autotrasplante de bazo en una zona vascularizada de rata es factible, obteniendo un injerto viable y funcional de acuerdo al gammagrama hepatoesplénico.

Referencias

1. Norman J, Covelli V. Transplantation of the spleen. *Ann Int Med* 1968; 68: 700-4.
2. Pabst R. Regeneration of autotransplanted splenic fragments: basic immunological and clinical relevance. *Clin Exp Immunol* 1999; 117: 423-4.
3. Leemans R, Harms G, Rijkers GT, Timens W. Spleen auto-transplantation 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 HB Jr. Splenic studies: I. Susceptibility to infection after splenectomy performed in infancy. *Ann Surg* 1952; 136: 239-42.
5. Cullingford GL, Watkins DN, Watts AD, 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. Kraai G, Ter Hart H, Meelhuizen 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, Rozzeboom-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-Walters DK. 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 Jr, Harrington TJ, Harrington WJ Sr. 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. *BMJ* 1996; 312: 430-4.
17. Ambrosino DM, Lee MY, Chen D, Shamberger RC. Response to *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccine in children undergoing splenectomy. *J Pediatr Surg* 1992; 27: 1045-8.
18. Pabst R, Westermann J, Rothkotter HJ. Immunoarchitecture of regenerated splenic and lymph node transplants. *Int Rev Cytol* 1991; 128: 215-60.

Cuadro V. Resultados de grupo 2, gammagrama hepatoesplénico.

Periodo observación (14 sem)	Infección o cambio comportamiento	Gammagrama hepatoesplénico por implante (positivo/negativo)
100% Vivas	Ninguna	100% positivas en ambas ingles

Ratas del grupo 2

19. Westermann J, Michel S, Lopez-Kostka S, Rothkotter HJ, Bette M, Weihe E, 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.
20. Leitner W, Bergmann ES, Thalhamer J. Regeneration of splenic stromal elements. *Res Exp Med* 1994; 194: 221-30.
21. 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.
22. Holdsworth RJ. Regeneration of the spleen and splenic auto-transplantation. *Br J Surg* 1991; 78: 270-8.
23. Timens W, Leemans R. Splenic autotransplantation and the immune system. Adequate testing required for evaluation of effect. *Ann Surg* 1992; 215: 256-60.
24. Henneking K, Müller C, Franke F, Becker H, Schwemmle K. Spätergebnisse der heterotopen Autotransplantation von Milzgewebe nach traumatischer Milzruptur im Kindesalter. *Chirurg* 1994; 65: 457-68.
25. 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.
26. Leemans R, Beekhuis H, Timens W, The TH, Klasen HJ. Fc-receptor function after human splenic autotransplantation. *Br J Surg* 1996; 83: 543-6.
27. Pisters PW, Pachter HL. Autologous splenic transplantation for splenic trauma. *Ann Surg* 1994; 219: 225-35.
28. Cervantes J. Conceptos modernos en manejo de trauma esplénico. *Cir Gen* 1986; 6: 138-40.
29. Cervantes J, Rojas G. Cirugía conservadora de trauma esplénico. *Cir Gen* 1985; 5: 251-9.