

## Utilización del pedículo esplénico en el trasplante intestinal segmentario: modelo experimental

J. Méndez Martín\*, I. García-Alonso Montoya\*\*, I. Iturburu Belmonte\*, J. Díaz Aguirregoitia\*\*, V. Portugal Porras\*, J.E. Bilbao Axpe\*, A. Apecechea Celaya\* y J. Ortiz Lacorzana\*

\*\* Laboratorio de Cirugía Experimental. Facultad de Medicina y Odontología. Universidad del País Vasco. Servicio de Cirugía General "B" (Prof. Dr. J. Méndez Martín). \* Hospital de Basurto. Bilbao.

### Resumen

El trasplante de intestino delgado es una técnica quirúrgica que todavía hoy precisa de estudios experimentales. Con el objeto de poder estudiar los aspectos específicos de la preservación de los injertos intestinales –evitando las complicaciones de tipo inmunológico–, se practicaron autotrasplantes de un segmento intestinal en perros Beagle. Se presentan los resultados de los primeros 21 casos, analizando la experiencia obtenida en la utilización del pedículo esplénico para la anastomosis vascular del injerto. Esta técnica permite mantener el drenaje portal del intestino trasplantado, sin necesidad de actuar sobre los vasos mesentéricos del receptor. De los 21 ensayos realizados, en 14 se ha logrado una buena permeabilidad de las anastomosis vasculares. De ellos, ocho permanecen vivos, habiéndose tenido que retirar el injerto en dos de ellos (seguimiento: 2-12 meses). Se detallan las complicaciones quirúrgicas, así como la metodología empleada para evaluar la funcionalidad precoz del injerto.

**Palabras clave:** *Intestino. Trasplante. Técnica quirúrgica. Pedículo vascular. Perro.*

### Introducción

Pese a los recientes pero limitados éxitos en el campo clínico<sup>1-4</sup>, el trasplante intestinal (TI) aún exige mayor desarrollo experimental. Dentro del mismo, los modelos elegidos son objeto de polémicas y controversias<sup>5,6</sup>, incluso en sus aspectos técnicos<sup>7</sup>. Su diseño experimental debe conjuntar una realización técnica suficientemente cómoda<sup>8</sup> con la obtención de supervivencias

### THE USE OF THE SPLENIC PEDICLE IN SEGMENTAL INTESTINAL TRANSPLANTATION. EXPERIMENTAL MODEL

Transplantation of the small intestine is a surgical technique for which experimental studies are required. To study the specific aspects of the preservation of intestinal grafts, –while avoiding immunologic type complications– autotransplantation of an intestinal segment in Beagle dogs was carried out. The results of the first 21 cases are presented analyzing the experience obtained in the use of the splenic pedicle for vascular anastomosis of the graft. This technique permits portal drainage of the transplanted intestine to be maintained without requiring intervention of the mesenteric vessels of the “recipient”. Of the 21 trials carried out, good permeability of the vascular anastomosis was achieved in 14, 8 of which remain alive with 2 having had the graft removed (follow up of 2-12 months). The surgical complications of the graft, in addition to the method used for evaluating early functionality are described.

**Key words:** *Intestine. Transplantation. Surgical technique. Vascular pedicle. Dog.*

adecuadas para la aplicación de estudios inmunológicos y fisiológicos aún pendientes<sup>9</sup>.

Un aspecto técnico cuestionable es la elección del pedículo vascular receptor del injerto. Muchos candidatos al TI han sufrido cirugía previa sobre el tubo digestivo, con frecuencia en la zona en la que habría que realizar el implante vascular, y otros asocian malformaciones severas en aquel sector. Estas circunstancias inhabilitan al pedículo portomesentérico para recibir el implante. De los dos modelos de reconstrucción vascular existentes (sistémico y portal) hay autores, como Kakero<sup>10</sup> y Shaffer<sup>11</sup>, partidarios de las anastomosis sistémicas por su facilidad técnica ante un pedículo portal no accesible. Por otro lado, Kimura<sup>12</sup> ha demostrado, en cerdos, la viabilidad de las anastomosis de pequeño calibre (vasos yeyunales) utilizando segmen-

Correspondencia: Dr. J. Méndez Martín.  
Laboratorio de Cirugía Experimental.  
Facultad de Medicina y Odontología. 48940 Lejona.

Aceptado para su publicación el 12 de marzo de 1992.

tos intestinales y respetando el drenaje portal con mantenimiento de la función digestiva mediante el injerto.

Para conseguir ambos objetivos –respetar el drenaje portal e intentar unas anastomosis cómodas– ideamos, a semejanza de alguna modalidad de trasplante renal<sup>13</sup>, implantar el intestino en el pedículo esplénico, asociando la esplenectomía.

Iniciado este proyecto de investigación sobre TI, elegimos el autotrasplante intestinal segmentario para obviar las implicaciones inmunológicas y centrarnos en los aspectos técnicos. Hemos utilizado dos modelos de implante del segmento autotrasplantado: heterotópico, con anastomosis vascular sistémica (mesentérico-aorta y mesentérico-cava), y ortotópico, con anastomosis a territorio portal, empleando los vasos esplénicos y asociando esplenectomía. De ellos, aportamos nuestros primeros resultados técnicos.

## Material y métodos

### *Animal de experimentación*

Hemos utilizado perros Beagle de ambos sexos, con edades comprendidas entre los 4 y 6 meses, con un peso medio de 13,07 (límites, 10-21). Fueron suministrados por la empresa Biocentre (España), siendo todos ellos controlados en el Estabulario de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad del País Vasco.

### *Preparación del animal*

Dos días antes del trasplante se inició tratamiento con neomicina oral (1 g/día). Se mantuvo en ayuno al animal las últimas 24 horas aunque el perro tenía acceso al agua.

### *Premedicación y anestesia*

El animal fue premedicado un cuarto de hora antes de iniciar la anestesia con fenotiacina (0,5 mg/kg) y atropina (0,04 mg/kg). Se trasladó al animal al quirófano donde se procedió a la cateterización de la vena cefálica derecha con un Abbocath del número 18.

Se realizó la inducción anestésica con pentobarbital sódico (35 mg/kg) bajo control de respuesta respiratoria y reflejos. Se llevó a cabo intubación orotraqueal y anestesia con pavulón (0,5 mg/kg) y fentanest (0,5 mg/kg).

En cuanto al mantenimiento de la anestesia se realizó con mezcla de NO<sub>2</sub> (30 %) y O<sub>2</sub> (70 %), a través de un respirador (MAINLEY SERVOVENT) a 12 ciclos/min, con flujo de 25 ml/kg/resp.

La relajación a lo largo de la intervención se consiguió mediante dosis adicionales de pavulón y fentanest en dependencia con la muy variable respuesta del perro.

### *Monitorización*

Se controlaron los siguientes parámetros: frecuencia cardíaca, electrocardiograma, tensión arterial y temperatura rectal (MINIMON 7131A, KONTRON). La determinación de la presión arterial se realizó por cateterismo de la arteria femoral derecha, que permitía, además, la obtención de muestras de sangre en todo momento.

Se cuantificó y midió horariamente la orina mediante la colocación de una sonda uretral, que se retiraba al final del acto quirúrgico.

### *Obtención del injerto*

Se obtuvo mediante laparotomía media xifopubiana. Se llevó a cabo aislamiento de un segmento de fleon de 100 cm, a partir de 3-5 cm de válvula ileocecal y minuciosa disección de arteria y vena de los numerosos ganglios linfáticos que las rodean, y que fueron extirpados. Durante la manipulación quirúrgica se ligaron todas las colaterales no vitales de dicho pedículo, bien con seda 4/0 o mediante clips hemostáticos de 3 o 5 mm (Ligacip, Ethicon). Se realizó sección de los extremos distal y proximal del segmento de intestino elegido como injerto, así como pinzamiento y cateterización de la arteria, iniciándose la perfusión con 500 ml de Ringer lactato a 4 °C heparinizado (4.000 U/l). Antes de cateterizar la vena se recuperó la sangre contenida en el injerto.

### *Manejo y preservación del intestino*

Tras iniciar la perfusión del injerto (fase de isquemia fría) por vía arterial, manteniendo abierto el drenaje venoso del mismo, el segmento de intestino fue extraído del campo quirúrgico para iniciarse su manejo en banco, situado en mesa adyacente a la operatoria: sobre una bandeja estéril llena de Ringer lactato a 4 °C, mezclado con Ringer en forma de hielo picado, se sumergía el injerto manteniendo en todo momento la perfusión vascular.

Los extremos de sección intestinal, convenientemente marcados (proximal y distal), fueron sondados con dos tubos endotraqueales del número 8, a cuyo través se perfundía la luz intestinal isoperistálticamente y de manera continua con 2.000 ml de Ringer lactato a 4 °C con 200 mg/l de tobramicina, a fin de limpiar la luz intestinal.

Finalizada la perfusión vascular de los iniciales 500 ml de Ringer, se mantuvo perfundido el injerto con solución de Collins. Antes del implante se lavó el Collins mediante perfusión rápida con Ringer a 4 °C, durante 10 minutos.

### *Implante del segmento intestinal*

Hemos utilizado dos modelos distintos. El primero (grupo I) consistía en un autotrasplante heterotópico con anastomosis sistémica (7 perros). En él, la continuidad del intestino residual se ha restablecido mediante una anastomosis término-terminal, con puntos sueltos seda 00. La anastomosis venosa del injerto se confeccionaba con sutura continua de Prolene de 6/0 mesentérico-cava. A continuación se efectuó la anastomosis arterial, también con sutura continua de Prolene 7/0, mesentérico-aórtica término-lateral. Cuando ha sido necesario, por existir fugas en la anastomosis, se han añadido uno o más puntos sueltos del mismo material. El injerto quedó excluido del tránsito digestivo y sus extremos abocados a piel mediante dos estomas terminales (Thiry-Vella loop).

La segunda modalidad (grupo II) a consistido en un autotrasplante ortotópico con anastomosis a pedículo esplénico, asociándose esplenectomía (14 perros). Mientras un equipo quirúrgico manipulaba el injerto "en banco", otro practicaba la esplenectomía reglada del animal, colocando proximalmente en la arteria un clip de Yassargil (Aesculap) y vaciando, por expre-

sión, el contenido hemático del bazo antes de proceder a seccionar el pedículo venoso tras aplicar distalmente otro *clip*. Se eligió como nivel de sección, para su ulterior anastomosis con el pedículo del injerto, aquél en el que los vasos esplénicos se bifurcaban polarmente; con ello se obtuvo un orificio anastomótico más adecuado al calibre de los vasos mesentéricos del implante. Prácticamente el páncreas nunca ha planteado problemas importantes durante la disección de los vasos esplénicos.

Las anastomosis vasculares se realizaron de modo semejante al grupo I, sólo que las suturas fueron término-terminales: tanto en este grupo como en el anterior, lavamos con papaverina los extremos arteriales para contrarrestar el vasospasmo existente. Esta maniobra sirvió, además, para ratificar la estanqueidad y buen drenaje de la anastomosis venosa. La continuidad digestiva se restauró con doble anastomosis término-terminal, monopiano, con puntos sueltos de seda 00; en los últimos 3 animales se han practicado mediante sutura mecánica (Proximate ILS-ILP 25-, Ethicon).

Para evitar el vólvulo del asa implantada, ésta se a fijado al peritoneo parietal en los primeros 5 animales de este grupo. En cambio, en los nueve últimos se fijó a la curvatura mayor gástrica mediante puntos sueltos de seda 00.

#### *Cierre de la laparotomía*

Se realizó en dos planos con dos suturas continuas de Vicryl 0 y del 1 (peritoneo y fascia, respectivamente) y con puntos sueltos de Vicryl del 0 para la piel (no es preciso retirar los puntos a la semana).

#### *Estudios realizados*

*Valoración de la metodología quirúrgica.* En todo momento hemos sistematizado y protocolizado las diferentes etapas quirúrgicas, buscando en el análisis de dichas determinaciones una explicación de la evolución del injerto.

*Resultados técnicos.* a) viabilidad del injerto; b) características funcionales del injerto, mediante la observación de los siguientes hechos:

1. Relleno retrógrado de la vena mesentérica al retirar el *clip* de Yassargil tras la anastomosis venosa, como indicador de la permeabilidad anastomótica.
2. Permeabilidad de la anastomosis venosa, al inyectar suero por la arteria, inmediatamente antes de la anastomosis arterial.
3. La visualización de un rápido flujo de llenado y eventual latido de los vasos arteriales del autoinjerto, al terminar la anastomosis arterial, bien sea en las arcadas intestinales o de ramas proximales.
4. El color adquirido por el intestino trasplantado posrevascularización.
5. La recuperación del peristaltismo.
6. El inicio de la secreción mucosa intestinal.

*Supervivencia a la cirugía.* Se ha valorado en la primera semana postrasplante.

*Estudio estadístico.* Para la recogida de datos y el estudio estadístico se utilizó el programa SDI (Horus-Hardware y Hewlett-Packard Española, 1989). Además de los cálculos básicos de frecuencia, medias, desviación típica, para los estudios comparativos entre las variables cuantitativas empleamos la compara-

ción de medias; para las cualitativas, la comparación de porcentajes, la prueba de la  $\chi^2$  y la prueba exacta de Fisher si la muestra era pequeña.

#### **Resultados**

Ya durante la intervención pudimos comprobar un mal funcionamiento de las anastomosis en tres animales del grupo I (2 arteriales y una venosa) y en cuatro del grupo II (3 arteriales y una venosa), lo que obligó a extirpar el injerto en el mismo acto quirúrgico y, por tanto, a diferenciar claramente estas dos situaciones en cuanto al cómputo de tiempos quirúrgicos y, lógicamente, a no poder valorar los resultados funcionales del implante intestinal en estos perros.

#### *Metodología quirúrgica*

En los animales con anastomosis vascular aparentemente correcta, la duración media de toda la intervención fue en el grupo I de 277 min y el grupo II de 298 min. En los perros en los que fracasaron las suturas vasculares, el tiempo de intervención fue de 301 y 313 min respectivamente para los grupos I y II.

En la extracción existe un pequeño período de isquemia caliente que tuvo una duración media de 11 minutos. La isquemia fría (en banco) osciló entre los 30 y 50 min en todos los animales.

En el implante los tiempos correspondientes a las anastomosis vasculares funcionantes oscilaron para el grupo I entre 70 y 90 min ( $77,5 \pm 9,57$ ). En el grupo II el tiempo varió entre 45 y 128 min ( $82,14 \pm 27,37$ ). En las anastomosis no funcionantes, el tiempo fue de 76-135 min ( $108,66 \pm 30$ ) en la localización sistémica y de 85-130 ( $108,75 \pm 20,15$ ) en el grupo II.

Desglosando los tiempos arterial y venoso tenemos, refiriéndonos a las anastomosis funcionantes venosas que fueron de 35 a 50 min ( $46,2 \pm 7,05$ ) en el grupo I y de 20 a 50 min ( $35 \pm 8,29$ ) en el grupo II. En las dos suturas venosas fracasadas se contabilizaron 55 y 95 min, respectivamente, para los grupos I y II.

Para las suturas arteriales funcionantes se obtuvo un tiempo de 20 a 40 min ( $28,7 \pm 8,53$ ) en el grupo I; de 25 a 40 min ( $29,44 \pm 4,63$ ) en el grupo II. Los tiempos invertidos en las no funcionantes fueron de 30-90 min ( $68,33 \pm 33,28$ ) en el grupo I y de 35-80 min ( $55 \pm 22,91$ ) para el grupo II.

En cualquiera de los casos las comparaciones de medias no arrojan diferencias estadísticamente significativas.

#### *Características funcionales del injerto*

Como ya hemos comentado, la permeabilidad vascular del injerto al finalizar la intervención fue negativa en 7 perros (3 en grupo I y 4 en grupo II), mientras que fue permeable en 14 (4 en grupo I y 10 en grupo II). En estos últimos se observaron las siguientes características funcionales: a) en cuanto a la "repleción venosa" retrógrada después de la anastomosis venosa, observamos "reflujo venoso" en los 14 animales (3 en el grupo I y 11 en el grupo II), llegando a una franca distensión de la anastomosis venosa en 6 de ellos (uno en el grupo I y 5 en el grupo II); b) en relación a la perfusión con suero desde la arteria del injerto, en todos los casos se demostró la permeabilidad de la anastomosis venosa, llegando en cinco de ellos (2 del grupo I y 3 del grupo II) a distenderse con normalidad, y c) al estudiar las

características del "latido arterial", se pudo apreciar en 8 perros su existencia en las arcadas vasculares del injerto (2 en el grupo I y 6 en el grupo II); en cambio en los otros seis sólo fue claro en el tronco arterial principal del injerto (2 en el grupo I y 4 en el grupo II).

El aspecto macroscópico del injerto después de la anastomosis fue bueno (color sonrosado) en 11 (3 del grupo I y 8 del grupo II), pálido en 2 (1 del grupo I y uno del grupo II), mientras que en uno fue congestivo (grupo II).

La hemorragia en los estomas intestinales tras finalizar la anastomosis vascular fue evidente en 10 animales (2 del grupo I y 8 del grupo II), no existiendo con claridad en 4 (2 en cada grupo).

La recuperación del peristaltismo, ya en el campo quirúrgico la comprobamos en 11 animales (3 del grupo I y 8 del grupo II).

La secreción de mucosidad en los estomas intestinales apareció en 9 perros (2 del grupo I y 7 del grupo II) en los minutos siguientes a terminar la anastomosis vascular.

En relación al comportamiento postoperatorio del animal valoramos el momento en el que el animal se levanta voluntariamente. En el grupo I entre las 6 y las 24 horas ( $11 \pm 7,01$ ) y en el grupo II entre 3 y 48 horas ( $17 \pm 14,3$ ). También valoramos el tiempo transcurrido hasta que el perro acepta ingesta sólida/pastosa. De un total de 12 perros valorados el tiempo osciló entre 24 y 168 horas ( $56,5 \pm 40,57$ ).

Ninguna comparación de medias, de porcentajes, o la prueba de la  $\chi^2$  resultó estadísticamente significativa entre los grupos.

### Resultados técnicos

En la evolución postoperatoria de los 14 animales en los que se realizó la intervención completa hemos objetivado una serie de complicaciones que en algunas ocasiones han conducido a la reintervención del animal y a la extirpación del injerto. Es lo que llamamos "fracasos tardíos" para diferenciarlos de los "precozes", en relación con una técnica quirúrgica fallida. Estos fracasos tardíos han afectado a 8 animales (tabla 1). De los cuatro debidos a volvulación, tres ocurrieron tras fijación del injerto a la pared abdominal, mientras que sólo uno corresponde a los fijados al estómago.

Dentro de estos animales hemos observado complicaciones hemorrágicas en 5 animales: dos que presentaron hemorragia peritoneal sin fugas evidentes en las anastomosis asociadas con vólvulos; una fuga arterial (y vólvulo), y dos que presentaron diátesis hemorrágica (los dos con fugas en las anastomosis digestivas) con hemorragia por herida, ostomías, peritoneo, anastomosis, orificio de punción para venoclisis, etcétera.

### Supervivencia

Si consideramos sólo a los 14 animales con anastomosis completas, ocho siguen vivos (57,1 %) y de ellos, seis conservan el

TABLA 1. Causas de los "fracasos tardíos" en los dos grupos experimentales

Causa del fracaso	Grupo I	Grupo II	Total
Dehiscencia anastomosis intestinal y peritonitis secundaria	1	1	2
Trombosis tardía	-	1	1
Volvulación del injerto	1	3	4
¿Mala preservación?	1	-	1

TABLA 2. Causas de los fallecimientos en los animales en los que se completó el autotrasplante intestinal

Causa de fallecimiento	N.º de animales
Anemia aguda	4
Hemorragia	2
Diátesis hemorrágica	2
Vólvulo intestinal	1
Hipovolemia + Hipotermia (?)	1

injerto intestinal sin que se observen alteraciones del tránsito intestinal ni adelgazamiento (seguimiento: 2-12 meses).

Tres han sido las causas de muerte (tabla 2): anemia aguda, vólvulo intestinal e hipovolemia asociada a hipotermia. De igual manera hemos objetivado 4 muertes postoperatorias en los perros en los que no completamos las anastomosis vasculares, todas ellas por hipovolemia e hipotermia secundarias a un acto quirúrgico algo más prolongado.

### Discusión

A pesar de que han transcurrido más de 30 años desde que Lillehei<sup>14</sup> publicara sus experiencias sobre la isquemia y el trasplante intestinal en el perro, las dificultades para el uso clínico del TI son considerables, aunque sea una técnica previsiblemente beneficiosa en el tratamiento del síndrome de intestino corto<sup>15,16</sup>, máxime con los esperanzadores resultados obtenidos mediante la inmunosupresión con FK-506<sup>17</sup> y con rapamicina<sup>18</sup>.

Aunque sean pocos los casos comunicados de TI seguidos de un cierto éxito<sup>1</sup>, su mera existencia obliga a proseguir los trabajos experimentales orientados a vencer los retos que el TI tiene aún pendientes, y que siguiendo a Schwartz<sup>19</sup> podemos concretar en los siguientes focos de interés, fuentes indudables de líneas investigadoras: 1) dificultades técnicas de las anastomosis vasculares<sup>5,6,8,9</sup> y de la fijación/localización del "flotante" intestino trasplantado<sup>14</sup>; 2) problemas inmunológicos asociados a la riqueza linfática intestinal y su meso, así como los derivados del establecimiento de la dosis adecuadas de inmunosupresores, cuya absorción digestiva puede estar comprometida; 3) riesgo de infección/sepsis asociado con la colonización bacteriana intestinal y la inmunosupresión necesaria; 4) ausencia de una clara y uniforme pauta de preservación del injerto<sup>20</sup>, y 5) falta de fiabilidad en los métodos histológicos, bioquímicos o inmunológicos de identificación precoz del rechazo<sup>19,21</sup>.

Podríamos añadir otras dos direcciones más hacia las que investigar y que también plantean interrogantes interesantes: a) los trastornos resultantes de la preservación/reperfusión, variables según el tiempo de preservación y la temperatura de conservación<sup>22,23</sup>, fluidos y medicaciones empleados tanto en la preservación como en la reperfusión<sup>24</sup>. En esta dirección lleva ya varios años trabajando nuestro grupo, si bien en rata<sup>25-27</sup>, y b) la recuperación funcional y absorptiva intestinal, dependiente además de todos los anteriores factores<sup>28</sup>, del drenaje venoso del injerto ya sea derivado a territorio sistémico (cava) o portal<sup>10,11,29-31</sup>, o quizá de la cuantía de intestino trasplantado<sup>12,32,33</sup>.

Al iniciar un programa de TI, de momento experimental en el perro, nos pareció oportuno poner a punto la o las técnicas de trasplante evitando todos los escollos inmunológicos; por esa razón elegimos el autotrasplante, que proporciona una información necesaria y precisa para un estudio anatómico y quirúrgico.

La elección de un modelo experimental que se componga de sólo 100 cm de intestino obedece a varias razones: viene apoyado por los resultados obtenidos a nivel experimental, ya que resulta suficiente esta longitud intestinal para conseguir una absorción de nutrientes aceptable, que se sigue de recuperación de peso corporal<sup>12</sup>; además, al introducir una menor cantidad de tejido extraño —muy rico en elementos linfoides como es el intestino— los fenómenos inmunológicos de rechazo y, sobre todo, de injerto contra huésped se ven disminuidos en su cuantía e importancia, lo que permitirá, en el momento de pasar a la etapa de alotrasplante experimental, el empleo simultáneo y recíproco de 2 animales, conceptuados ambos como donantes y como receptores, lo que supone un mejor aprovechamiento de recursos y un indudable ahorro de tiempo, infraestructura y número de animales sujetos a experimentación. Pero, además, este hecho amplía las posibilidades clínicas del trasplante, abriendo las puertas a los donantes vivos-parientes<sup>34</sup> del enfermo con un bagaje inmunológico cercano.

Las discordancias halladas en la bibliografía<sup>10, 11, 29-31, 35-37</sup> acerca de la tolerancia inmunológica y resultados metabólicos que se siguen a las anastomosis portal o sistémica, nos han movido a adoptar —con vistas a posteriores trabajos— el modelo clásico o sistémico y a diseñar un modelo de trasplante con drenaje venoso portal. Starzl<sup>37</sup> recomienda mantener el drenaje portal de los trasplantes multiorgánicos, por la existencia de factores hepatotróficos, cuya ausencia si se confecciona un drenaje sistémico, conduce a una esteatosis hepática. Pero dicho drenaje portal debe ser fácilmente accesible y permitir una técnica cómoda. En nuestro modelo de trasplante segmentario, los vasos del injerto son ramas y no tronco de arteria y vena mesentérica y, por lo tanto, su calibre (injerto canino empleado de un metro) no permite una reconstrucción fácil con la vena porta<sup>7</sup>; en cambio, la anastomosis después de la esplenectomía es más cómoda por estar menos profunda. Además, y con la intención de realizar un trasplante recíproco, evitamos en la extracción el empleo de un segmento de aorta o un *patch* de Carrel que inutilizarían como receptor a uno de los animales. Indudablemente la perspectiva de su aplicación con donantes vivos hace inviable la extracción de un injerto con *patch* de aorta. Tales han sido las razones por las que nos inclinamos por utilizar la porción terminal del pedículo esplénico, previa esplenectomía, y compararlo con el sistémico.

La utilización del pedículo esplénico no es habitual; de hecho, no hemos encontrado referencias clínicas sobre uso de estos vasos para instaurar un drenaje portal. Únicamente Squiers et al<sup>5</sup> comunican en un estudio mixto realizado en cadáveres y en perros (cuatro), que el empleo de “los vasos esplénicos es técnicamente difícil y puede dar lugar a una esplenectomía, [...] e interferir en la tolerancia inmunológica”. Sin negar que la técnica sea laboriosa, nuestros resultados no nos hacen pensar que las dificultades sean mayores que las generadas con las anastomosis sistémicas. No obstante, hay que admitir el tamaño reducido de los vasos del pedículo esplénico canino con una mayor trascendencia técnica en la arteria; pero con una preparación cuidadosa de la misma y llegando a la bifurcación de los vasos polares se puede construir con tal bifurcación una anastomosis de calibre suficiente. El espasmo que siempre observamos con la manipulación se puede paliar mediante la irrigación local de papaverina. En cuanto a los posibles efectos negativos sobre la tolerancia inmunológica, ya Schraut<sup>31</sup> en 1983 opinaba lo contrario, estimando que la esplenectomía añadida a un drenaje porto-portal puede redundar en una reducción de las dosis de ciclosporina y,

por lo tanto, de la inmunosupresión, lo que sería altamente beneficioso, sobre todo en humanos, al disminuir la incidencia y magnitud de las complicaciones infecciosas, ligadas a la inmunosupresión.

En la valoración técnica del injerto hemos considerado aspectos fiables de escasa complejidad respecto a la validez anatómica vascular, indicadores de un correcto implante tales como la repleción venosa retrógrada, el latido arterial, la coloración del intestino trasplantado o el peristaltismo, o bien signos de sufrimiento de asa intestinal, como la secreción mucosa posvascularización. Del estudio estadístico de los mismos no hemos objetivado diferencias significativas entre los dos grupos, por lo que pensamos que tanto uno como otro modelo puede realizarse de modo alternativo.

Al igual que otros muchos autores<sup>9, 21, 22, 29, 30, 38-40</sup> lavamos la luz intestinal del injerto con Ringer lactato frío porque, además de acelerar el enfriamiento del órgano, hay evidencia de que las enzimas pancreáticas pueden actuar lesivamente sobre los propios enterocitos del intestino no lavado<sup>41</sup>.

Un punto especialmente llamativo en ambos grupos experimentales es el tiempo invertido en el acto quirúrgico y dentro de éste en la isquemia (templada y/o fría), que parecen muy altos. Sin embargo, autores muy experimentados como el grupo de Paris<sup>3</sup> refieren tiempos sorprendentemente prolongados, llegando a 6 horas y 30 minutos en trasplante clínico. Collin<sup>28</sup>, en perros, emplea 75,6 minutos (límites, 57-107) en el tiempo de isquemia, incluyendo ambas anastomosis, cifras algo más bajas de las nuestras. Aunque, ciertamente, siempre sea conveniente reducir el tiempo quirúrgico de isquemia, no debe olvidarse la cuidadosa disección del pedículo vascular del injerto, que se encuentra rodeado de muchos y voluminosos ganglios linfáticos. Por otro lado, las anastomosis en vasos de pequeño calibre (0,6-0,4 cm) resultan casi una técnica microquirúrgica, siendo preciso, en palabras de Serra Romón: “un entrenamiento y una dedicación a la práctica continuada de estas técnicas en los laboratorios experimentales, de manera que no se pierdan la habilidad y rapidez, seguramente adquiridas con mucho esfuerzo”<sup>42</sup>. Lillehei<sup>14</sup> confiesa haber tenido múltiples errores y que “sólo después de 50 o más experimentos” consiguió una técnica y un modelo utilizable con éxito. Quizás estas dificultades puedan verse disminuidas empleando animales cercanos a los 20 kg<sup>31</sup> en el modelo canino.

La mortalidad dentro de la primera semana, aún sin los fenómenos inmunológicos de rechazo o de injerto contra huésped, es superior al 50 %<sup>21, 30, 38</sup>. Reznick<sup>39</sup> refiere una mortalidad del 60 % sólo por motivos técnicos. Todo ello, indudablemente genera un dispendio económico que condiciona de manera evidente la práctica y el diseño de estas investigaciones. Equipos tan entrenados en trasplantes como el de la Universidad de Minnesota<sup>40</sup>, tienen una mortalidad del 30,76 % por los mismos problemas técnicos. Globalmente, en nuestros dos grupos, la mortalidad de los perros operados es del 42,85 % (6/14), cifras similares, e incluso inferiores, a las de los autores citados.

Pero, además de los técnicos, es preciso tener en cuenta otros factores. Según nuestra experiencia, varios animales han fallecido por hipovolemia, con hemorragia evidente. La pérdida de líquidos es muy importante, sobre todo en la reperusión del autoinjerto, tanto hacia la luz como hacia la pared del intestino trasplantado en forma de edema. Este fenómeno desequilibra y exacerba cualquier situación de hipovolemia siempre presente por la propia intervención quirúrgica y potencia los efectos de la pérdida sanguínea inherente a la resección intestinal<sup>7, 9</sup> y la

esplenectomía. Por este motivo, en un intento de autotransfusión esplénica, recomendamos ligar primero la arteria esplénica y "exprimir" el bazo antes de ligar la vena.

Hemos objetivado también fenómenos de hipotermia irreversible. El injerto de intestino enfriado puede actuar como un auténtico radiador de frío, superpuesto a cualquier otra causa de hipotermia, a su vez ocasionada por una intervención de larga duración y por los fármacos anestésicos. La irrigación del peritoneo y del intestino ya anastomosado con suero fisiológico templado disminuye este contratiempo<sup>9,12</sup>.

Las trombosis vasculares son otra complicación precoz que nos ha hecho perder varios animales. Esta eventualidad ya fue descrita de antiguo<sup>40,42-44</sup> y sus múltiples causas hay que buscarlas en: 1) un déficit de flujo por las pérdidas de fluidos; 2) el vasospasmo ocasionado por una especial sensibilidad del intestino denervado<sup>43,45</sup> a las catecolaminas, aunque sus niveles permanezcan bajos<sup>29</sup>; 3) en el edema que sigue a la interrupción linfática, y 4) en la endotoxemia progresiva por isquemia intestinal<sup>9,22</sup>. Sin embargo, cabe pensar también en motivos puramente técnicos, la necesaria esquelización de los vasos, las suturas incorrectas, las torsiones o angulaciones vasculares son posibles factores favorecedores de la trombosis.

Muchos autores refieren como causa de fracaso de todo el proceso las oclusiones intestinales con participación del mesenterio, bien sean voluciones, estrangulaciones internas o intususcepciones<sup>14,19,29,30,35,46</sup>. Hemos objetivado 2 vólvulos que obligaron a reoperar al animal y extirpar el autoinjerto. Para prevenir tal eventualidad, en los últimos 9 animales del grupo II fijamos las asas trasplantadas entre sí, de manera similar a la descrita en la técnica de Noble, y luego fijadas a la curvatura mayor del estómago mediante puntos sueltos, logrando hacer desaparecer el efecto de "intestino flotante". De este modo no observamos voluciones. Otros autores, como Lillehei<sup>14</sup> lo hacen a pared abdominal y Denisson<sup>21</sup> fija los mesos del injerto al meso del receptor.

## Conclusión

De esta primera aproximación al trasplante experimental de intestino delgado podríamos decir que nuestros resultados están dentro de lo técnicamente aceptable, lo que nos permite proseguir en este camino. Por otro lado el diseño y la utilización del pedículo esplénico (portal) como modelo factible y alternativo al clásico (sistémico), viene apoyado por los resultados muy similares a los obtenidos por otros autores y por nosotros mismos con el empleo de las anastomosis mesentérico-aórtica y mesentérico-cava.

## Agradecimiento

Este trabajo se ha llevado a cabo gracias a la colaboración prestada por el Hospital de Basurto, y Ethicon (Johnson & Johnson S.A.) y la financiación de la UPV/EHU (Proyectos 094-327-0058/89 y 094.327-E088/90).

## Bibliografía

- Deltz E, Schroeder P, Gundlach M, Hansmann ML, Leimenstoll G. Successful clinical small-bowel transplantation. *Transplant Proc* 1990; 22:2.501.
- Grant D. Intestinal transplantation: Current status. *Transplant Proc* 1989; 21:2.869-2.871.
- Goulet O, Revillon Y, Jan D et al. Small-bowel transplantation in children. *Transplant Proc* 1990; 22:2.499-2.500.
- Grant D, Wall W, Zhong R, Mimeault R, Sutherland F, Ghent C, Duff J. Experimental clinical intestinal transplantation. Initial experience of a canadian centre. *Transplant Proc* 1990; 22:2.497-2.498.
- Squiers EC, Augelli N, Welsh R, Frikker MA. Orthotopic small-bowel transplantation: A human anatomic investigation and development of a animal model. *Transplant Proc* 1990; 22:2.447.
- Zhong R, Grant D, Sutherland F et al. Refined technique for intestinal transplant in the rat. *Microsurgery* 1991; 12:268-274.
- Lear PA. Experimental models in small-bowel transplantation. *Transplant Proc* 1990; 22:2.442-2.442.
- Pérez Ruiz L, Marco Estarreado L, Xan-mar Mangrane R. Anastomosis portorrenal en el trasplante intestinal experimental. *Cir Esp* 1990; 48:147-150.
- Raju S, Fujiwara H, Grogan JB, Dzielak DJ. A successful model of small bowel autotransplantation in the dog. *J Invest Surg* 1989; 2:107-114.
- Kaneko H, Fischman MA, Buckley T. A comparison of portal versus systemic venous drainage in the pig small-bowel allograft recipient. *Surgery* 1991; 109:663-670.
- Shaffer D, Diflo T, Love W et al. Immunologic and metabolic effects of a caval versus portal venous drainage in small-bowel transplantation. *Surgery* 1988; 104:518-524.
- Kimura K, LaRosa Ch, Blank MA, Jaffe BM. Successful segmental intestinal transplantation in enterectomized pigs. *Ann Surg* 1990; 211:158-164.
- Talbot-Wright R, Carretero P, Alcaraz A et al. El pedículo esplénico. Una alternativa para el trasplante renal complejo. *Cir Esp* 1990; 48:653-659.
- Lillehei RC, Goot B, Miller FA. The physiological response of the small bowel of the dog to ischemia including prolonged *in vitro* preservation of the bowel with successful replacement and survival. *Ann Surg* 1959; 150:543-560.
- Okada A, Yakagi Y. Home parenteral nutrition and indications for small-bowel transplantation. *Transplant Proc* 1990; 22:2.431.
- Lenard-Jones JE. Indications and need for long-term parenteral nutrition: Implications for intestinal transplantation. *Transplant Proc* 1990; 22:2.427-2.429.
- Hoffman AL, Makowka L, Banner B et al. The use of FK 506 for small intestine allotransplantation: Inhibition of acute rejection and prevention of fatal graft-versus-host disease. *Transplantation* 1990; 49:483-490.
- Stepkowski SM, Chen H, Daloze P, Kahan BD. Rapamycin, a potent immunosuppressive drug for vascularized heart, kidney, and small bowel transplantation in the rat. *Transplantation* 1991; 51:22-26.
- Schwartz MZ. Small intestine transplantation. En: Flye MW, ed. *Principles of organ transplantation*. Filadelfia, WB Saunders Co., 1989; 26:500-515.
- Hernández E, Galeano F, Palacios J et al. Conservación de intestino para trasplante. Acción de fármacos vasoactivos. *Cir Esp* 1990; 48:13-19.
- Denisson AR, Collins J, Watkins RM et al. Segmental small intestinal allografts in the dog: I. Morphological and functional indexes of rejection. *Transplantation* 1987; 44:474-478.
- Fujiwara H, Raju S, Grogan JB, Johnson WW. Organ preservation injury in small bowel transplantation. *J Invest Surg* 1990; 3:23-32.
- Park PO, Wallander J, Tufveson G, Haglund U. Cold ischemic and reperfusion injury in a model of small bowel transplantation in the rat. *Eur Surg Res* 1991; 23:1-8.
- Gao W, Takei Y, Marzi I et al. Carolina rinse solution - A new strategy to increase survival time after orthotopic liver transplantation in the rat. *Transplantation* 1991; 52:417-424.
- Ortiz J, García-Alonso I, Basáñez A, López de Tejada I, Barberá E, Méndez J. Modificaciones lesionales en la revascularización intestinal experimental mediante inmunosupresión. *Cir Esp* 1990; 48:305-309.
- García-Alonso I, Ortiz J, Basáñez A, Portugal V, Méndez J. Cuantificación de las lesiones en el síndrome de revascularización intestinal. *Gastroenterol Hepatol* 1990; 13:274-279.
- Bilbao J, García-Alonso I, Portugal V, Barceló P, Ortiz J, Méndez J. Utilización terapéutica de fármacos antioxidantes en el síndrome de reperusión intestinal. *Rev Esp Enf Digest* 1991; 80:237-241.
- Collin J, Dennison AR, Watkins RM et al. Segmental small intestinal

- nal allografts: II. Inadequate function with cyclosporine immunosuppression: Evidence of a protein losing enteropathy. *Transplantation* 1987; 44:479-483.
29. Sarr MG, Duenes JA, Walters AM. Jejunal and ileal absorptive function after a model of canine jejunoileal autotransplantation. *J Surg Res* 1991; 51:233-239.
  30. Raju S, Fujiwara H, Grogan JB, Achord JL. Long-term nutritional function of orthotopic small bowel autotransplants. *J Surg Res* 1989; 46:142-146.
  31. Schraut WH, Sosemurgy AS, Riddell RM. Prolongation of intestinal allograft survival without immunosuppressive drug therapy. *Transplantation of small bowel allografts. J Surg Res* 1983; 34:597-607.
  32. Kirsch AJ, Kirsch SS, Kimura K et al. The adaptative ability of transplanted rat small intestine. *Surgery* 1991; 109:779-787.
  33. Pirenne J, D'Silva M, Hamoir E et al. Influence of the length of small bowel graft on the severity of graft *versus* host disease. *Microsurgery* 1990; 11:303-308.
  34. Schoeder P, Goulet O, Lear P. Small-bowel transplantation: European experience. *Lancet* 1987; 336:110-111.
  35. Murase N, Demetris AJ, Kim DG, Fung JJ, Starzl TE. Rejection of multivisceral allografts in rats: A sequential analysis with comparison to isolated orthotopic small-bowel and liver grafts. *Surgery* 1990; 108:880-889.
  36. Schraut WH, Abraham S, Lee KKW. Portal *versus* caval venous drainage of small bowel allografts: Technical and metabolic consequences. *Surgery* 1986; 99:193-198.
  37. Starzl TE, Todo S, Tzakis A et al. The many faces of multivisceral transplantation. *Surg Gynecol Obstet* 1991; 172:335-344.
  38. Sarr MG, Duenes JA. Early and long term effects of a model of intestinal autotransplantation on intestinal motor patterns. *Surg Gynecol Obstet* 1990; 170:338-346.
  39. Reznick RK, Craddock GN, Langer G et al. Structure and function of small bowel allografts in the dog. *Immunosuppression with cyclosporin A. Can J Surg* 1982; 25:51-55.
  40. Aeder MI, Fasola CG, Dunning M et al. Successful canine small intestinal allotransplantation: *Ex vivo* irradiation and cyclosporine pretreatment. *Transplant Proc* 1991; 23:685-687.
  41. Raju S, Didlake RH, Cayirli M et al. Experimental small bowel transplantation utilizing cyclosporine. *Transplantation* 1984; 38:561-566.
  42. Serra Romón JM, Cañadel J. *Técnicas de microcirugía*. EUNSA, Pamplona, 1979.
  43. Ballinger WF, Christy MG, Ashby WB. Autotransplantation of the small intestine: The effect of denervation. *Surgery* 1962; 52:151-164.
  44. Craddock GN, Nordgren SR, Reznick RK et al. Small bowel transplantation in the dog using cyclosporine. *Transplantation* 1983; 35:284-288.
  45. Malmfors G, Hakanson R, Okmian R, Sundler F. Peptidergic nerves persist after jejunal autotransplantation. An experimental study in the piglet. *J Pediatr Surg* 1980; 15:53-56.
  46. Fujiwara H, Grogan JB, Raju S. Total orthotopic small bowel transplantation with cyclosporine. *Transplantation* 1987; 44:469-473.