



Técnica de extracción pancreática para el aislamiento de islotes de Langerhans

T. Hubert, L. Arnalsteen, T. Jany, C. Proye, F. Pattou

El alotrasplante de islotes de Langerhans constituye una alternativa potencial a la insulinoterapia en pacientes que presentan formas graves de diabetes tipo 1. A continuación se describe la técnica de extracción del páncreas para el aislamiento y alotrasplante de islotes de Langerhans. Los páncreas se obtienen de donantes en estado de muerte encefálica. La extracción simultánea del páncreas no modifica ninguna de las etapas clásicas de la extracción multiorgánica. Con el fin de facilitar la extracción del páncreas, se realiza una amplia disección del bloque duodenopancreático. Después se efectúa una disección cuidadosa del páncreas para conservar su cápsula intacta y las posibles arterias hepáticas accesorias. Posteriormente, se disecan el borde superior del istmo pancreático y el troncocelíaco, con objeto de reducir el riesgo de lesiones en el páncreas al extraer el hígado. La disección termina con la abertura amplia de la retrocavidad de los epiplones, para poder introducir más adelante hielo picado. Tras el pinzamiento y la perfusión, se extrae el bloque pancreático-duodeno-esplénico inmediatamente después del hígado y antes que los riñones. Este bloque se coloca sobre un lecho de hielo picado estéril mezclado con suero refrigerado. Durante todo el proceso de disección, se tiene cuidado de mantener el páncreas refrigerado y de conservar su cápsula. Después, se realiza la abertura transversal del conducto de Wirsung y se introducen sin forzar dos catéteres atraumáticos. Posteriormente, se descontamina el páncreas y se mantiene refrigerado en una solución de conservación. El aislamiento de los páncreas extraídos se realiza mediante técnicas desarrolladas y validadas, primero en el cerdo, y luego en el hombre. El injerto de los islotes de una determinada preparación se programa tras un control cuantitativo y cualitativo. Los resultados clínicos preliminares han permitido confirmar el dominio de la técnica de extracción pancreática y de aislamiento de islotes humanos, por lo que es posible proponer el aloinjerto de islotes a un número cada vez mayor de pacientes diabéticos gravemente enfermos.

© 2006 Elsevier SAS. Todos los derechos reservados.

Palabras Clave: Diabetes tipo 1; Páncreas; Extracción; Técnica quirúrgica; Islotes de Langerhans; Injerto

Plan

■ Introducción	1
■ Extracción pancreática	2
Disección	2
Refrigeración in situ	2
Explante	2
Preparación del injerto	2
Conservación del injerto	3
■ Conclusión	3

■ Introducción

Gracias al perfeccionamiento de los protocolos de inmunosupresión [1], el aloinjerto de islotes de Langerhans representa hoy en día una alternativa potencial a la insulinoterapia en pacientes aquejados de formas graves de diabetes tipo 1 [2]. Sin embargo, el dominio de la técnica de extracción pancreática y de aislamiento de islotes humanos [3, 4] condiciona el desarrollo clínico de este nuevo enfoque terapéutico. Debido al bajo rendimiento del proceso de aislamiento de islotes humanos, es preciso inyectar islotes procedentes de varios donantes para conseguir la insulinoindependencia en un paciente diabético. Varios estudios retrospectivos han demostrado la influencia capital de las características del donante en los resultados del aislamiento, así como el carácter primordial de las técnicas de extracción y de

conservación del páncreas [5-7]. A continuación, se describe la experiencia de los autores en la extracción pancreática para el aislamiento y el alotrasplante de islotes de Langerhans, en el marco de un programa de investigación multidisciplinaria desarrollado desde hace 12 años en el hospital regional universitario de Lille [8].

■ Extracción pancreática

La preparación del donante sigue las reglas habituales de una extracción de órganos [9, 10].

Se procede a la descontaminación del estómago y del duodeno, que se realiza dos veces: primero antes de la incisión, y después justo antes del pinzamiento aórtico. Esta descontaminación se efectúa mediante una solución de povidona yodada diluida en 500 ml de suero fisiológico e instilada en la sonda gástrica.

La extracción simultánea del páncreas no modifica ninguna de las etapas clásicas de la extracción multiorgánica. Una vez realizada una amplia laparotomía, se evalúa el estado de los órganos del donante -en especial del páncreas- así como la posible presencia de anomalías anatómicas. Aunque algunas variaciones vasculares (arteria hepática derecha accesoria y/o izquierda) nunca contraindican la extracción del páncreas y aislamiento de islotes, sí requieren una estrecha colaboración entre los equipos hepático y pancreático. Los principales criterios para el éxito de la extracción [11] son, además de la ausencia de isquemia caliente, la conservación de la cápsula pancreática y la buena refrigeración *in situ* de dicho órgano.

Disección

Con el fin de facilitar la extracción del páncreas, se realiza una amplia disección del bloque duodenopancreático que permite la movilización completa del marco duodenal y de la cabeza del páncreas (maniobra de Catel). Si existe una arteria hepática derecha accesoria (menos del 20% de los casos) [9], es necesario disecar el pedículo mesentérico superior en su origen y lejos del páncreas para conservar su integridad.

Una vez identificados los elementos del pedículo hepático, se diseña el borde superior del istmo pancreático para descubrir la cara anterior de la vena porta, hasta la confluencia esplenomesaraica. La realización de esta disección, antes del pinzamiento, permite reducir el riesgo de lesión pancreática al seccionar la vena porta durante el explante hepático. Asimismo, la disección previa del tronco celiaco facilita la posterior conservación de la cápsula pancreática y permite identificar y preservar una posible arteria hepática izquierda. Por último, la canulación de la vena porta realizada por el equipo hepático no tiene consecuencias para el páncreas. En cambio, es indispensable que la presión de perfusión (altura de la bolsa del líquido de conservación) sea por lo menos 60 cm inferior a la de la perfusión aórtica, con el fin de no alterar el retorno venoso de los efluentes pancreáticos.

La disección termina con la abertura amplia de la trascavidad de los epiploones, después de la sección y ligadura del ligamento gastrocólico, para poder introducir más adelante el hielo picado. La función de este último es enfriar mejor el colon transverso (y su contenido) y acelerar la refrigeración de la cola del páncreas.

Refrigeración *in situ*

Una vez pinzada la aorta celíaca, comienza la perfusión aórtica y la refrigeración *in situ*. El líquido refrigerado que más se utiliza para la perfusión *in situ* es el UW. La cavidad abdominal se llena de suero helado y de hielo picado, sobre todo la región que está en contacto con el páncreas, en la retrocavidad de los epiploones.



Figura 1. Bloque pancreático-duodeno-esplénico extraído y colocado sobre un lecho de hielo.

Explante

El páncreas se extrae inmediatamente después del hígado y antes que los riñones. Durante el proceso de explante del hígado, se secciona el colédoco entre dos pinzas, justo por encima del duodeno. La vena mesentérica superior se secciona inmediatamente por debajo de la confluencia esplenomesaraica, respetando de manera escrupulosa la cápsula pancreática a nivel del istmo ya disecado. La sección amplia del ligamento gastrocólico se termina para descubrir el conjunto de la glándula pancreática. Después, se libera la cola del páncreas que forma un bloque con el bazo, una vez seccionado el ligamento frenoesplénico siguiendo el plano de disección avascular retropancreático. Tras el lavado gástrico con povidona yodada, se diseña el duodeno y se sujetó mediante unas cintas vasculares antes de seccionarlo con una grapadora lineal automática, justo por debajo del bulbo, por un lado, y a nivel del genus inferius, directamente por debajo del proceso unciforme, por otro lado. La pancreatectomía se completa con la sección de la lámina retroportal por detrás, y del pedículo mesentérico superior, por debajo del páncreas.

Preparación del injerto

El bloque pancreático-duodeno-esplénico extraído se coloca de inmediato sobre un lecho de hielo picado estéril mezclado con suero refrigerado, en una bandeja metálica, sobre la mesa satélite previamente preparada (Fig. 1). Durante todo el proceso de disección, se tiene especial cuidado de mantener el páncreas refrigerado y de conservar su cápsula.

Durante la duodenectomía, y siempre que se haga una disección cuidadosa, es posible individualizar en la inmensa mayoría de los casos un plano claro de despegamiento entre el páncreas y la serosa duodenal. La ampolla de Vater se individualiza y se secciona entre dos ligaduras. Por último, se realiza una cuidadosa disección de la cápsula, para extirpar la grasa peripancreática y los vasos pancreáticos (en especial, arteria y vena esplénicas). En esta disección, es preferible dejar un poco de grasa en la cápsula pancreática para no lesionarla.

Una vez terminada la disección del páncreas (Fig. 2), se coloca la cara posterior de este órgano mirando al cirujano para localizar el conducto de Wirsung por disección capsular de un ancho máximo de 1 cm, a nivel del istmo, con ayuda de una pinza de Halsted. El conducto de Wirsung (Fig. 3), de color gris perla, mide 1-2 mm de diámetro. Después se sujetó el conducto mediante cintas vasculares para abrirlo en sentido transversal, teniendo cuidado de conservar su continuidad.



Figura 2. Páncreas disecado (a la izquierda: cabeza; a la derecha: cola).

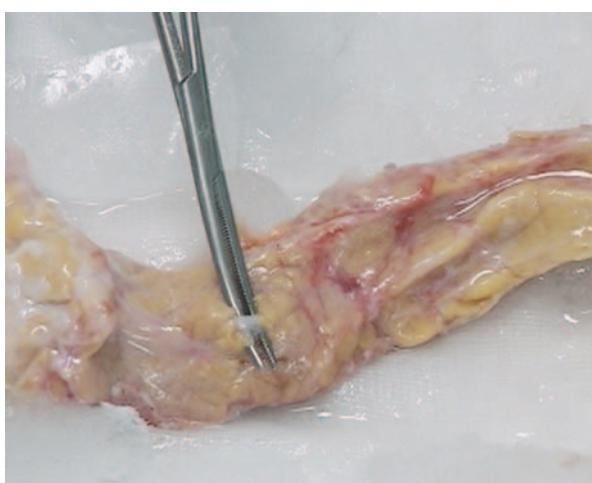


Figura 3. Identificación del conducto de Wirsung.

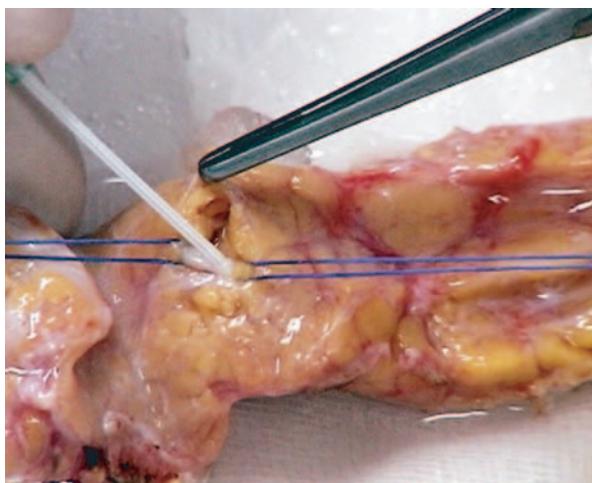


Figura 4. Canulación sin forzar del conducto de Wirsung.

Una laceración del conducto de Wirsung perjudica en gran medida el aislamiento ulterior. Se introducen sin forzar (Fig. 4) dos catéteres atraumáticos con aletas de 18 G por ambos lados de la abertura, dirigidos hacia las porciones cefálica y caudal del páncreas respectivamente.

Los dos catéteres deben quedar bien fijos (Fig. 5), para evitar que puedan salirse durante el transporte o manipulación del páncreas por parte del equipo de aislamiento. A continuación se procede a pesar el páncreas en condiciones estériles y se inyectan 2 ml de líquido de conservación refrigerado en cada uno de los catéteres para verificar la integridad de la cápsula y eliminar las posibles fugas. Normalmente, al final de la inyección se debe observar un ligero reflujo de líquido. Después de la obturación de los catéteres, se descontamina el páncreas bañándolo en la solución de povidona yodada y se introduce en un frasco estéril que contenga 1 l de solución de conservación refrigerada.

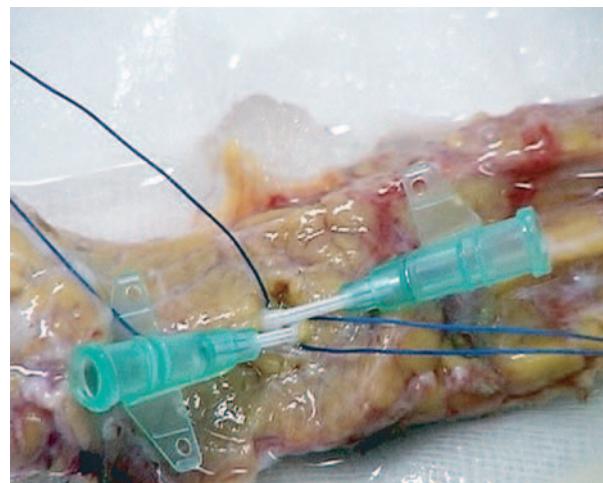


Figura 5. Implantación de dos catéteres antes de la fijación y colocación de los tapones obturadores.

Conservación del injerto

El recipiente primario se empaca dentro de dos bolsas para intestino y después se coloca en un contenedor de transporte lleno de hielo picado. El páncreas extraído debe llevarse hasta el laboratorio en el plazo más breve posible, para reducir la duración de la isquemia fría. También se ponen en hielo algunos ganglios o fragmentos esplénicos, previamente introducidos en empaques estériles, para hacer las pruebas cruzadas. De acuerdo con las diferentes normativas locales, el contenedor isotermo de transporte debería identificarse con una etiqueta propia de cualquier transporte de órganos (etiqueta adhesiva naranja fluorescente con inscripciones en negro) y en la que figuren los siguientes datos obligatorios: nombre del órgano, hora de la ligadura, medio de transporte y lugares concretos de origen y destino.

Conclusión

Los páncreas extraídos se aíslan mediante técnicas desarrolladas y validadas primero en el cerdo y, luego, en el hombre. El trasplante de los islotes de una determinada preparación se programa después de los controles cuantitativo y cualitativo.

Los resultados clínicos preliminares han permitido confirmar el dominio de la técnica de extracción pancreática y de aislamiento de islotes humanos, por lo que se puede proponer el alotrasplante de islotes a un número creciente de pacientes que presenten formas graves de diabetes.

“ Conducta que se debe seguir

- Se prepara al donante según las normas habituales de una extracción de órganos.
- La extracción simultánea del páncreas no modifica ninguna de las etapas clásicas de la extracción multiorgánica.
- Algunas variaciones vasculares (arteria hepática derecha accesoria y/o izquierda) nunca contraindican la extracción pancreática y el posterior aislamiento de islotes, pero sí requieren una estrecha colaboración entre los equipos hepático y pancreático.

“ Puntos importantes ”

- La etapa de la extracción pancreática es fundamental para optimizar el proceso de aislamiento.
- Los principales criterios para el éxito de la extracción son, además de la ausencia de isquemia caliente, la conservación de la cápsula pancreática y la buena refrigeración in situ de dicho órgano.
- El proceso de aislamiento se optimiza cuando un equipo local efectúa la extracción pancreática.
- Además de la calidad de la extracción pancreática y de las características propias del donante y del órgano, el rendimiento del aislamiento depende de la solución de conservación empleada durante la intervención y, después, para conservar el órgano antes del aislamiento.

Bibliografía

- [1] Shapiro AM, Lakey JR, Ryan EA, Korbutt GS, Toth E, Warnock GL, et al. Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *N Engl J Med* 2000;343: 230-8.
- [2] Robertson RP. Islet transplantation as a treatment for diabetes: a work in progress. *N Engl J Med* 2004;350:694-705.
- [3] Ricordi C, Lacy PE, Finke EH, Olack BJ, Scharp DW. Automated method for isolation of human pancreatic islets. *Diabetes* 1988;37:413-20.
- [4] Pattou F, Kerr-Conte J, Hober C, Vantyghem MC, Petit J, Lefebvre J, et al. Mass isolation of human islets of Langerhans favored by the prior development of a semiautomatic technique in the pig model. *Transplant Proc* 1995;27:1751-2.
- [5] Benhamou PY, Watt PC, Mullen Y, Ingles S, Watanabe Y, Nomura Y, et al. Human islet isolation in 104 consecutive cases. Factors affecting isolation success. *Transplantation* 1994;57:1804-10.
- [6] Lakey JR, Warnock GL, Rajotte RV, Suarez-Alamazor ME, Ao Z, Shapiro AM, et al. Variables in organ donors that affect the recovery of human islets of Langerhans. *Transplantation* 1996;61:1047-53.
- [7] Toso C, Oberholzer J, Ris F, Triponez F, Bucher P, Demirag A, et al. Factors affecting human islet of Langerhans isolation yields. *Transplant Proc* 2002;34:826-7.
- [8] Hubert T, Arnalsteen L, Jany T, Prieur E, Triponez F, Nunes B, et al. Technique du prélèvement pancréatique pour l'isolement des îlots de Langerhans. *Ann Chir* 2005;130: 384-90.
- [9] Boudjemaa K, Lechaux D, Dupont-Bierre E, Karam G, Corbineau H, Compagnon P, et al. Technique des prélèvements multiorganes. *Encycl Méd Chir* (Elsevier SAS, Paris), Techniques chirurgicales - Appareil digestif, 40-090, 2003 : 16p.
- [10] Abu-Elmagd K, Fung J, Bueno J, Martin D, Madariaga JR, Mazariegos G, et al. Logistics and technique for procurement of intestinal, pancreatic, and hepatic grafts from the same donor. *Ann Surg* 2000;232:680-7.
- [11] Lakey JR, Kneteman NM, Rajotte RV, Wu DC, Bigam D, Shapiro AM. Effect of core pancreas temperature during cadaveric procurement on human islet isolation and functional viability. *Transplantation* 2002;73: 1106-10.

T. Hubert (thubert@univ-lille2.fr).

L. Arnalsteen.

T. Jany.

C. Proye.

F. Pattou (fpattou@univ-lille2.fr).

Équipe Inserm ERIT-M 0106 « Thérapie cellulaire du diabète », Faculté de médecine, pôle Recherche, centre hospitalier régional et universitaire de Lille, 59045 Lille cedex, France.

Service de chirurgie générale et endocrinienne, Hôpital Claude-Huriez, centre hospitalier régional et universitaire de Lille, 59045 Lille cedex, France.

Cualquier referencia a este artículo debe incluir la mención del artículo original: Hubert T., Arnalsteen L., Jany T., Proye C., Pattou F. Technique du prélèvement pancréatique pour l'isolement des îlots de Langerhans. EMC (Elsevier SAS, Paris), Techniques chirurgicales - Appareil digestif, 40-899-B, 2006.

Disponible en www.emc-consulte.com (sitio en francés)

Título del artículo: Technique du prélèvement pancréatique pour l'isolement des îlots de Langerhans



Algoritmos



Ilustraciones complementarias



Vídeos / Animaciones



Aspectos legales



Información al paciente



Informaciones complementarias



Autoevaluación