# UNIVERSIDAD DE BARCELONA FACULTAD DE MEDICINA

# TRASPLANTE HOMOLOGO VASCULARIZADO DE TROMPA Y OVARIO

TESIS PRESENTADA POR EL LICENCIADO FRANCISCO CARMONA HERRERA
PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUGIA

BARCELONA, 1991

f. tormon

## 3.7. SISTEMAS DE MAGNIFICACION

1.- Lupa (Fig 39): Ha sido utilizada por el ayudante microquirúrgico durante todo el tiempo la intervención El sistema óptico de la utilizada por los prismas de Keeler. nosotros deriva de Las principales características ópticas de este instrumento son:

a)distancia de trabajo: Se define como la distancia existente entre el extremo proximal de la lupa y el campo quirúrgico. La utilizada por nosotros, que es la más usual en Ginecología, es de 42 centímetros.

b) magnificación: El grado de aumento de las lupas en microcirugía varía entre dos y ocho aumentos. Los más



Figura 39: Lupa de microcirugía. Está basada en el sistema Keeler.

utilizados son de 3X a 5X. Nosotros hemos utilizado una lupa de cuatro aumentos

- c) campo visual: Es el área que puede ser observada a través del sistema óptico. Su tamaño suele ser mayor cuando las ópticas se basan en el sistema de Keeler que cuando lo hacen en el de Galileo. En nuestro caso el campo visual era de 150 milímetros.
- d) Iluminación: No hemos trabajado con fuentes de iluminación accesorias incorporadas a la lupa, ya que no ha sido necesario por la escasa profundidad de campo operatorio. La empleada ha sido la existente en el quirófano.
- 2.- Microscopio (Fig. 40 a 42): Constituye una herramienta de trabajo esencial en microcirugía ya que aporta al cirujano una mejor visión e iluminación de los diferentes planos permitiendo una gran precisión técnica y el empleo de finas suturas. Hemos trabajado con el microscopio operatorio modelo OPMI 6 de la casa "Carl Zeiss" de Iena. Esta firma comercial ha sido pionera en la fabricación y comercialización de este tipo de aparatos siendo el primero de sus modelos, el OPMI 1, el

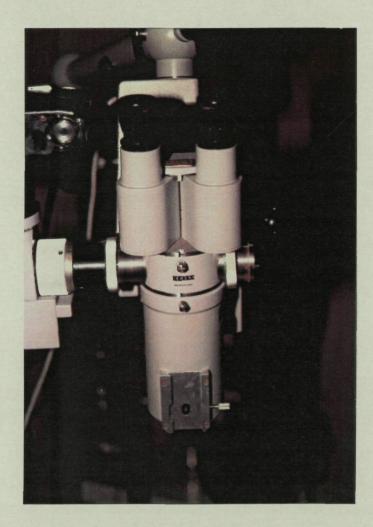


Figura 40: Cara posterior del microscopio OPMI 6

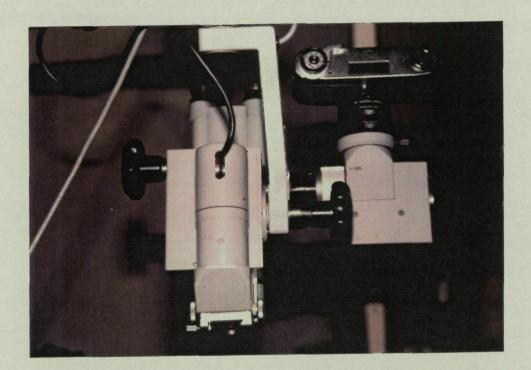


Figura 41: Cara frontal del microscopio OPMI 6

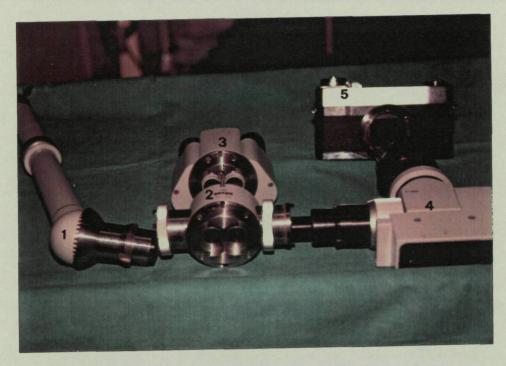


Figura 42: Accesorios del microscopio OPMI 6. 1:Tubo de coobservación; 2:Divisor de haces; 3:Ocular; 4:Fotoadaptador; 5:Cámara fotográfica.

que ha servido para desarrollar la mayoría de técnicas microquirúrgicas vigentes en la actualidad.

La estructura básica (cuerpo) del modelo OPMI 6 es un tubo binocular que asegura una visión estereoscópica del campo operatorio. En él se integran:

- a) El cambiador de aumentos: El grado de aumento usado con este microscopio es fácilmente modificado merced a un mecanismo accionado por un motor cuyo mando de control está colocado en un pedal. La magnificación conseguida, así como la extensión del campo visual, dependerá, además, de los oculares y del objetivo empleado. En nuestro caso, las diversas cifras de aquellos parámetros, aumentos y campo visual se pueden encontrar en la tabla 8.
- b) Los oculares: Son intercambiables y van montados sobre un tubo binocular de 12,5 milímetros de distancia focal; pueden ser ajustados de manera que se corrijan las anomalías visuales de cada operador. Si se opera con gafas o la visión del cirujano es normal deben enrasarse al cero. Hemos utilizado unos oculares de 12,5 aumentos.

Tabla 8: Aumentos y campos de objeto, obtenidos con el OPMI VI dotado de un objetivo (f1) de 300 mm., tubo (f2) de 125 mm. y oculares de 12,5x (diámetro del campo luminoso: 48mm), según la indicación del cambiador de aumentos utilizada.

2,5	
2,3	100
4,0	62
6,4	38
10,0	24
16,0	15
	6,4 10,0

- c) Objetivo: Es uno de los elementos de mayor importancia porque determina la distancia focal, la distancia aproximada entre el cuerpo del microscopio y el campo operatorio, la cual debe ser lo suficientemente grande para permitir las manipulaciones quirúrgicas sin engorros. También es muy importante para determinación del campo visual У los aumentos conseguidos. Hemos utilizado un objetivo 300 de milímetros de distancia focal.
- d) Iluminación: Corre a cargo de una lámpara coaxial de seis voltios y treinta watios de potencia incorporada en el microscopio. Consigue la iluminación más óptima posible por dos motivos: por su intensidad y porque, al emanar los rayos luminosos paralelamente a los de observación, la luz llega al campo operatorio, por muy profundo o reducido que este sea, sin interferencias de las manos del cirujano o de otras partes mecánicas o accesorios de propio microscopio.
- e) Elementos mecánicos: Están constituidos por:

  1) una articulación que permite solidarizar el cuerpo del
  microscopio al brazo que lo suspende de la columna y que
  le confiere la movilidad necesaria para que pueda ser

desplazado sobre el campo operatorio y 2)un mando giratorio a cada lado para el enfoque manual.

El cuerpo del microscopio OPMI 6 esta unido a una columna de 1,80 metros de altura que se desplaza sobre ruedas y tiene una base lo suficientemente solida para estabilizarlo, aun cuando esté colocado lo más lejos posible de aquella mediante el brazo poliarticulado. Hemos utilizado una columna con motor eléctrico incorporado, que permite por un lado una carrera del del microscopio de aproximadamente milímetros por segundo y un recorrido total de 70 milímetros, para el enfoque automático y, por otro lado, realizar el intercambio de aumentos de forma totalmente automática. El control de dicho motor es a pedal lo que ofrece la ventaja de un enfoque y una selección del aumento a utilizar, rápida y precisa sin que tengan que apartarse las manos del campo operatorio.

Otros elementos de interés que hemos utilizado son:

1)Divisor 50: Este elemento se inserta en el cuerpo del microscopio y permite el acople de numerosos suplementos (dos de ellos de manera simultánea). Se trata de un divisor de rayos que permite la coobservación por el

ayudante u otra persona o bien la adaptación de un sistema de documentación. 2)Tubo de coobservación monocular: Se adapta al elemento anterior y es útil para la observación del campo operatorio por el ayudante en los pasos más delicados del procedimiento, el personal de quirófano u otras personas que de esta manera pueden interesarse y seguir paso a paso la técnica quirúrgica. 3)Fotoadaptador: Se monta también en el divisor 50 y permite la fijación de una cámara fotográfica. equipado con una lente que recoge la luz del divisor de rayos y forma la imagen en el plano de la película cargada en la cámara. Posee un diafragma graduado. 4)Cámara fotográfica Zeiss: Al ser de gran interés, especialmente para la docencia y la investigación, el poder registrar las imágenes que, normalmente, asequibles solo al equipo quirúrgico además de la pieza anterior hemos utilizado esta cámara reflex, muy ligera, no automática, para película de 35 milímetros de manejo muy sencillo. Hemos utilizado película para diapositivas en color de 200 ASA. Este grado de sensibilidad ofrece una buena calidad đе imagen, por lo que lo preferido a otras películas más nítidas pero sensibles que por un lado carecen de la luminosidad

necesaria para trabajar indistintamente con todos los aumentos disponibles en el microscopio y, por otro, han de ser expuestas durante una fracción de tiempo mayor con el inconveniente que esto supone para realizar correctamente el enfoque (recordemos que el motivo de la fotografía es móvil y necesitamos una película de las denominadas rápidas).

#### 3.8. PAUTA INMUNOSUPRESORA

Uno de los principales problemas que plantea el trasplante de órganos es el de la reacción que el injerto provoca en el huésped al ser reconocido como una sustancia extraña por el sistema inmunitario de este; esta reacción acaba destruyendo el órgano trasplantado y obliga al uso de sustancias farmacológicas capaces de suprimirla cuando se realiza un trasplante.

En el experimento que ahora presentamos se ha utilizado la ciclosporina como sustancia inmunosupresora. A todos los animales receptores del grupo A se les administró, dos horas antes del inicio de la intervención, una dosis de 10 mg./kg. de peso de

dicha sustancia. Esta dosis se repitió, a razón de una vez cada 24 horas, durante los primeros 15 días del estudio. A partir de entonces, y hasta el final del mismo, se redujo a cinco miligramos por kilo de peso y día.

# 3.9. ANALISIS HORMONAL

Todas las determinaciones hormonales se han realizado técnica del radioinmunoanálisis. la mediante Esta técnica es extremadamente sensible para detectar antígenos y anticuerpos, y resulta muy económica en cuanto al uso de reactivos. De manera simplificada la técnica básica para su realización es como sigue391 (Fig. 43): el antígeno (en nuestro caso, la hormona de la que queremos determinar niveles), en solución salina, incuba en un tubo o placa de plástico (etapa 1). La superficie del plástico absorve pequeñas cantidades de antígeno. El antígeno libre se elimina por lavado (etapa

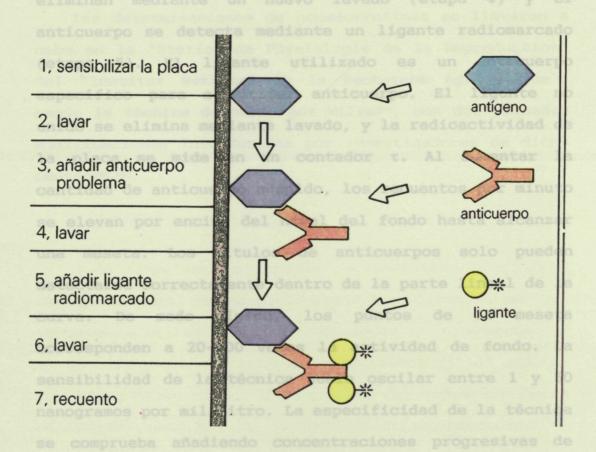


Figura 43: Esquema de la técnica básica del radioinmunoanálisis.

Les determinaciones de estradiol y progesterons

2). Se añade la muestra de anticuerpo, el cual se une al antígeno (etapa 3). Las proteínas no unidas se eliminan mediante un nuevo lavado (etapa 4) y anticuerpo se detecta mediante un ligante radiomarcado (etapa 5). El ligante utilizado es un anticuerpo específico para el primer anticuerpo. El ligante no unido se elimina mediante lavado, y la radioactividad de la placa se mide en un contador t. Al aumentar cantidad de anticuerpo añadido, los recuentos por minuto se elevan por encima del nivel del fondo hasta alcanzar una meseta. Los títulos de anticuerpos solo pueden detectarse correctamente dentro de la parte lineal de la curva. De modo típico, los puntos de la corresponden a 20-100 veces la actividad de fondo. La sensibilidad de la técnica suele oscilar entre 1 y 50 nanogramos por mililitro. La especificidad de la técnica se comprueba añadiendo concentraciones progresivas de antigeno en la etapa 3, el cual se unirá al anticuerpo e impedirá su unión al antígeno absorvido sobre la placa. La adición de cantidades progresivas đе antigeno disminuye los recuentos por minuto.

Las determinaciones de estradiol y progesterona fueron realizadas en el Laboratorio de Hormonal del

Hospital Clínico y Provincial de Barcelona, mediante la técnica habitualmente realizada en el mismo<sup>394</sup>.

Las determinaciones de gonadotrofinas se llevaron a cabo en la "Station de Physiologie de la Reproduction" del "Institut National de la Recherche Agronomique", según la técnica descrita por Milss<sup>395</sup>, con dos pequeñas modificaciones introducidas por investigadores de dicho centro<sup>396,397</sup>

# 3.10. TECNICA DE SACRIFICIO

Tras finalizar la segunda intervención, y mientras el animal aun permanecía bajo los efectos de los fármacos administrados para conseguir la anestesia, se le administraban 250 miligramos de pentobarbital sódico, por vía intracardíaca. Esto produjo en todos los casos un rápido cese en la actividad cardio-pulmonar, no produciendo sufrimientos innecesarios en el animal.

## 3.11. ANALISIS DE LOS DATOS

Los diferentes resultados obtenidos en el estudio introducidos en un ordenador personal compatible, modelo AT, dotado de un microprocesador modelo 80286, de 720 Kilobytes de memoria RAM, con un "harddisk" de 40 Megabytes de capacidad de almacenamiento y con dos unidades para "floppydisk", una de 5,25 pulgadas de 1,2 Megabytes de capacidad y otra de 3,5 pulgadas de 1,44 Megabytes de capacidad y que trabaja con el sistema operativo MS-DOS versión 3.3. Los resultados fueron introducidos a través del procesador datos **dbase** IV (Asthon-Tate Co., USA) У posteriormente fueron adecuadamente trabajados permitir su análisis mediante las diferentes utilidades

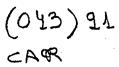
ofrecidas por el paquete estadístico Statistical Package for Social Sciences (SPSS Inc., Chicago, USA)

Para la realización de las curvas de normalidad y rango de los niveles hormonales y tamaño y peso de los ovarios y trompa se estudiaron la media, varianza y desviación estandar de los mismos, y se establecieron los diferentes intervalos de confianza al 95%.

La comparación de las diferentes variables cuantitativas entre sí, se realizó mediante la prueba de comparación de dos medias observadas en grupos con datos independientes y el análisis de la varianza.

La comparación de las diferentes variables cualitativas entre sí se realizó aplicando la prueba de Chi-cuadrado (corregida según el método de Yates cuando fue necesario) o mediante el cálculo exacto de la probabilidad obtenido al aplicar el test de Fisher.

Cuando fue necesario se recurrió al uso de pruebas no paramétricas.



4.-RESULTADOS

# 4.1. DESCRIPCION DE LA MUESTRA

En la tabla 9 se expone la distribución por grupos de los animales utilizados en este trabajo. Como ya ha sido expuesto, los animales pertenecientes a los grupos C y D fueron utilizados como controles de la función ovárica, mientras que los animales incluidos en los grupos A y B fueron los objetos principales del estudio. Los animales pertenecientes al grupo A recibieron medicación inmunosupresora, mientras que, por el contrario, tal medicación no fue administrada a los animales pertenecientes al grupo B.

Tabla 9. Distribución por grupos de los animales

Grupo 1	Trasplantados, inmunosuprimidos	27 animales
Grupo 2	Trasplantados, no inmunosuprimidos	23 animales
Grupo 3	No trasplantados, 1 ovario	10 animales
Grupo 4	No trasplantados, sin ovarios	10 animales
	-	

Como paso previo, necesario para cualquier comparación ulterior se ha comprobado, tanto en este apartado como en el resto, que las variables estudiadas siguen una distribución normal (test de Kolmogorov-Smirnov). Como se puede comprobar en la tabla únicamente las variables cualitativas, las de tipo ordinal y algunas cuantitativas de tipo discreto no siguieron dicho tipo de distribución mientras que, por el contrario, todas las variables cuantitativas de tipo contínuo (que incluyen las mediciones hormonales, las variables que miden los tiempos de duración de la intervención, del período de isquemia y del efecto de la anestesia y los distintos pesos y longitudes valorados) y alguna de tipo cuantitativo discreto (supervivencia de los animales) siguen una distribución normal.

En las tablas siguientes se comprueba la homogeneidad de los grupos estudiados. Como se observa en la tabla 11, no existieron diferencias referente al peso de los animales o de sus ovarios o a la longitud de dichos órganos o de la trompa, entre los cuatro grupos estudiados (análisis de la varianza; p>0,05).

Tabla 10.- Lista de variables estudiadas y ajuste de las mismas a una distribución normal

Grupo D	888888888888888888888888888888888888888
Grupo C	8888
Grupo B	\$
Grupo A	88888888888888888888888888888888888888
	Peso del animal Peso del ovario, 1º int. Long, del ovario, 1º int. Long, del ovario, 1º int. Duración isquemia Duración isquemia Duración siquemia Duración sucestesia Puntos anast usascular Puntos anast usascular Supervivencia Contactos macho Coloración injerio Adherencias Peso de lovario, 2º int. Long, ele ovario, 2º int. Long, ele ovario, 2º int. Long, ele ovario, 2º int. Long, del ovario, 2º int. Long, use del ovario, 2º int. Long, tompa, 2º int. Long, destalia injerio Permeab, tubárica Histol, tubárica Histol, ubárica Histol, ubárica Betrad, 2º hora (2º día) Estrad, basal (2º día) Estrad, basal (3º día) Estrad, basal (3º día) Estrad, basal (3º día) Estrad, basal (3º día) Progest, 2º hora (3º día) Estrad, basal (7º día) Progest, 2º hora (3º día) Estrad, 2º hora (3º día) Estrad, 2º hora (3º día) Progest, 2º hora (3º día) Estrad, 2º hora (3º día)

Se estableció la hipótesis nula de que las distintas variables seguían una distribución normal. Cuando el valor de p fue inferior a 0,05, se rechazó dicha hipótesis y se aceptó la hipótesis alternativa (distribución diferente a la normal).

NS= p>0,05

\*: No valorado en ese grupo

En la tabla 12 se exponen los valores medios tan observados en parámetros importantes para resultados del estudio como son la duración intervención, la duración del período de tiempo en que los órganos trasplantados permanecieron en situación de isquemia o la duración del efecto de los fármacos anestésicos; existieron diferencias no en dichos parámetros entre los animales de los grupos A y B (T de Student; p>0,05). En dicha tabla se observa también que, aunque la supervivencia tuvo tendencia a ser ligeramente superior en el grupo de animales no inmunosuprimidos, tampoco en este apartado se observaron diferencias entre los grupos A y B (T de Student; p>0,05).

Aunque la calidad y homogeneidad de la técnica quirúrgica es difícil de valorar de manera objetiva, en la tabla 13 se observa que no existen diferencias en el número de puntos que fueron aplicados en uno y otro grupo al realizar tanto las anastomosis vasculares como las tubáricas (T de Student; p>0,05).

En la tabla 14 se expone el número de veces que los animales de los dos grupos estudiados fueron puestos en

Tabla 12. Parámetros de la intervención. Supervivencia.

	Grupo A	Grupo B	p*
Duración interv. (min.)	101,6±26,7	106,0±35,6	NS
Duración isquemia (min.)	19,5±7,2	23,0±6,0	NS
Duración anest. (min.)	170,1±26,1	175,4±40,8	NS
Supervivencia (días)	64,5±50,6	85,5±63,1	NS

Los resultados se expresan como X±DE

NS = p > 0.05

<sup>\*:</sup>T de Student

Tabla 13. Técnica quirúrgica

	Grupo A	Grupo B	p*
Ptos. en anast. vascular	2,3±0,1	2,4±0,2	NS
Ptos. en anast. tubárica	3,5±0,36	3,8±0,2	NS

Los resultados se expresan como X±DE

NS = p > 0.05

<sup>\*:</sup> T de Student

Tabla 14.- Nº de contactos con el macho.

	Grupo A (n=27)	Grupo B (n=23)
0 contactos	11	8
1 contacto	1.	0
2 contactos	3	2
3 contactos	12	13

contacto con el macho. La razón de que algunos animales no fueran puestos en contacto con el macho en tres ocasiones fue la muerte. Como se observa en dicha tabla, tampoco existieron diferencias en lo que se refiere a dicho parámetro (Test de Chi-cuadrado; p>0,05).

Finalmente es necesario hacer notar que, motivado por el alto coste que supusieron las determinaciones hormonales, sobre todo las correspondientes a la Hormona Folículo Estimulante, el apartado de resultados hormonales estará referido únicamente a 33 de los 50 animales que componen los dos grupos estudiados; dieciocho de ellos pertenecen al grupo A (animales que recibieron inmunosupresión) y los quince restantes al grupo B (animales no inmunosuprimidos).

## 4.2. RESULTADOS HISTOLOGICOS

Del estudio histológico de la trompa y del ovario se han obtenido los siguientes resultados:

2.1.- Resultados macroscópicos: Como se expone en la tabla 15, durante la segunda intervención el injerto fácilmente identificable en 24 (88,9%) de los animales pertenecientes al grupo que recibió medicación inmunosupresora (grupo A) (Fig. 44), mientras que solo lo fue en 6 (26,1%) de los pertenecientes al grupo B (animales inmunosuprimidos) (Fig. 45). no diferencias resultaron estadísticamente ser significativas (Test de Chi-cuadrado; p<0,0001).

# 4.2. RESULTADOS HISTOLOGICOS

Del estudio histológico de la trompa y del ovario se han obtenido los siguientes resultados:

2.1.- Resultados macroscópicos: Como se expone en la tabla 15, durante la segunda intervención el injerto fue fácilmente identificable en 24 (88,9%) de animales pertenecientes al grupo que recibió medicación inmunosupresora (grupo A) (Fig. 44), mientras que solo lo fue en 6 (26,1%) de los pertenecientes al grupo B inmunosuprimidos) (Fig. 45). (animales no **Estas** diferencias resultaron ser estadísticamente significativas (Test de Chi-cuadrado; p<0,0001).

Tabla 15. Identificabilidad del injerto durante la segunda laparatomía

	Grupo A (n=27)	Grupo B (n=23)
Identificable macroscop.	24 (88,9%)	6 (26,1%)
No identificable macroscop.	3 (11,1%)	17 (73,9%)

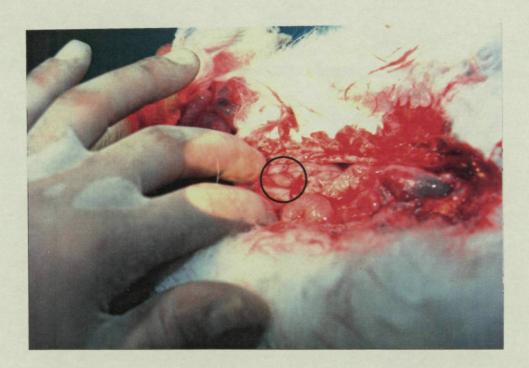


Figura 44: Anejo trasplantado en uno de los animales inmunosuprimidos. Aspecto macroscópico normal.



Fig. 45: Anejo trasplantado en uno de los animales no inmunosuprimidos. Aspecto macroscópico claramente anormal. Las diferentes estructuras son difícles de identificar.

El injerto, o la zona correspondiente al mismo, presentaba coloración rosada, normal, en el 63% (17) de los animales inmunosuprimidos. Tal coloración no se presentó en ninguno de los animales que no recibieron inmunosupresores; en este grupo, el 56,5% de los animales (13) presentaron coloración violácea en el injerto o en la zona que, macroscópicamente, se suponía que correspondía al mismo. (Tabla 16) (Fig. 46 y 47). Estas diferencias también resultaron significativas (test de Chi-cuadrado; p<0,0001).

Asimismo, el número de adherencias post-quirúrgicas encontradas durante la segunda laparotomía o durante la autopsia fue muy superior en el grupo B (animales inmunocompetentes). En la tabla 17 se observa que el 66% (18) de los animales del grupo A no presentaban adherencias o bien estas eran de carácter leve en caso de existir; sin embargo, la totalidad de los animales pertenecientes al grupo В presentaban cuadros adherenciales graves o muy graves (test de Chi-cuadrado; p<0,0001).

Tabla 16. Coloración del injerto durante la segunda laparotomía.

	Grupo A (n=27)	Grupo B (n=23)
Rosada	17 (63%)	-
Pálida	7 (25,9%)	10 (43,5%)
Violácea	3 (11,1%)	13 (56,5%)

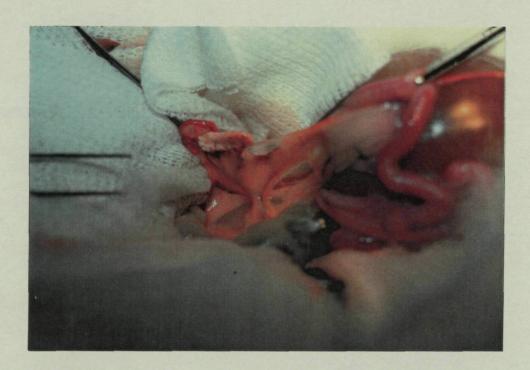


Fig. 46: Coloración normal en el anejo traplantado en uno de los animales inmunosuprimidos.

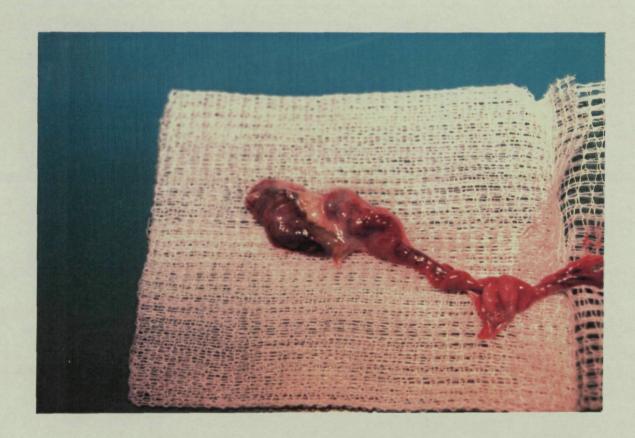


Fig. 47: Coloración violacea del anejo trasplantado a uno de los animales no inmunosuprimidos.

Tabla 18. Permeabilidad vascular durante la segunda laparotomía.

	Grupo A (n=27)	Grupo B (n=23)
Anast. permeable	24 (88,9%)	4 (17,4%)
Anast. ocluída	3 (11,1%)	19 (82,6%)

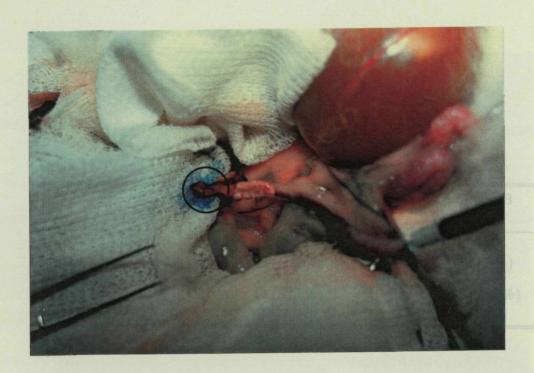


Fig. 48: Cromoperturbación con azul de metileno en uno de los animales inmunosuprimidos. La trompa es permeable.

Tabla 19. Permeabilidad tubárica durante la segunda laparotomía.

1 (4,3%)
22 (95,7%)

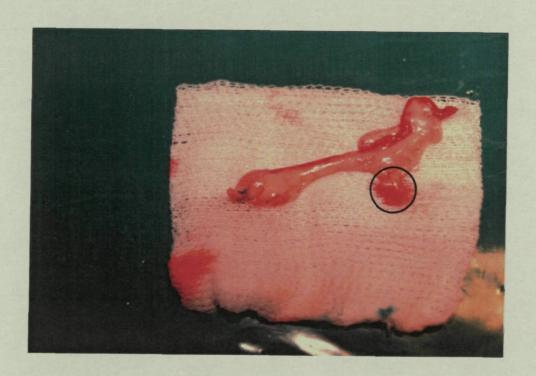


Fig. 49: Anejo trasplantado a uno de los animales inmunosuprimidos tras la extirpación. Permeabilidad vascular.