

**UNIVERSIDAD DE MURCIA**



**FACULTAD DE VETERINARIA**  
**DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y CIRUGÍA ANIMAL**

***“PÁNCREAS PORCINO: MODELO ANATÓMICO Y  
ABORDAJE ENDOVASCULAR PARA TERAPIAS CELULAR  
Y GÉNICA”***

**WENDY HERNÁNDEZ CABRERA**

**2010**

*A mi abuelita Carmen, a mi madre y mis hermanos, que sin estar a mi lado nunca estuvieron ausentes y que aún en la distancia me daban las fuerzas para seguir adelante.*

## *AGRADECIMIENTOS*

Intentaré ser breve, sin dejar a un lado a toda la gente que tengo que agradecer, pues sé que cada persona que lea estas líneas sabrá que un verdadero agradecimiento no se puede expresar en unas cuantas líneas...

En primer lugar dar las gracias a mis directores de tesis. Al catedrático en Anatomía y Embriología Veterinaria, D. Rafael Latorre Reviriego por todo su TIEMPO Y DEDICACIÓN, en este momento, no sé si he cumplido con sus objetivos, pero yo le estoy profundamente agradecida por todo lo que ha hecho por mí. Gracias Jefe.

Al catedrático D. José María Vázquez Autón por sus consejos que fueron muy valiosos para la culminación de este trabajo, Quiero decirle que usted es mi ejemplo a seguir en este mundo maravilloso que es la anatomía, Gracias por todas sus recomendaciones, las tendré siempre presentes.

Al Dr. D. Francisco Sánchez Margallo, director del Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, por la importante labor científica y técnica desarrollada en dicho centro, que ha supuesto una excelente aportación a este trabajo.

Darle las gracias al Dr. Fei Sun, responsable del equipo de Radiología intervencionista del Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres por la realización de las angiografías.

Agradezco a Ricardo, Ester y Daniel que han sufrido conmigo la recogida de datos y que gracias a ellos puse los cimientos de este trabajo, sin ellos me hubiera sido muy difícil y costoso realizar esta labor, todo esto ha conllevado a una estrecha amistad de la cual me alegro porque sé que tengo tres joyas.

Al MAE Adolfo Vela Olivares, gracias por iniciarme en el camino de la anatomía, y gracias por darme esa gran sombra que hasta hoy me sigue cobijando.

Por supuesto quiero dar las gracias a mi familia, en especial a mi abuelita Ma. Del Carmen y a mi tío Luis, por el esfuerzo que ha supuesto para ellos empujar hacia delante toda mi trayectoria profesional sin ningún tipo de reparo. Una vez más agradecer la herencia más grande que me han dado ¡MI EDUCACIÓN PROFESIONAL! Os quiero mucho.

A mi madre, sabes que todos mis esfuerzos siempre serán inspirados en ti y que mi único ideal eres tú. TE AMO.

A mi padre por darme la vida.

A Norma y Lore, por estar siempre dispuestas a compartir, escuchar y darme su apoyo incondicional. Gracias por sus consejos.

A mis hermanos, Nadinm, Cynthia, Jenny, Víctor y José, simplemente gracias por ser parte de mi vida, ¡Os amo!

A todos los integrantes del departamento de Anatomía y Embriología; Paquito, Cayetano, Juan, Nati, Daniel, Mariano y José, porque siempre me han ofrecido una sonrisa, quiero decirlos que formáis un excelente equipo de trabajo.

A los Doctores, Francisco Gil, Octavio López y Gregorio Ramírez, soy feliz de conocer gente que quiera y ame la anatomía, donde está más que visto que no es una ciencia muerta, gracias a ustedes por sus aportaciones científicas. Me llevo de cada uno un poco de sus grandes conocimientos en el área.

No tengo palabras para agradecer a María Dolores Ayala Florenciano sin cuyo apoyo moral, para mí el más valioso de los apoyos, y su amistad el más valioso de los tesoros, simplemente las caídas hubiesen sido más dolorosas, gracias por los incontables detalles que nunca me pasaron desapercibidos, y aunque el tiempo pasa parece que fue ayer cuando te conocí, eres muy especial, te voy a extrañar!



A mis amigos:

Noemi, solo te diré que agradezco a la vida por ponerte en mi camino. Esta es la forma más sencilla de demostrarte cuanto significas para mí. ¡Te quiero mucho!

Elisa, Esperanza y Mariel, siendo ustedes las que más sufrieron esta separación, gracias por aguantar tanta ausencia y por siempre estar aún en la distancia cuando más las necesitaba, prometo compensar todo! os quiero.

A Laura, fuiste mi motivo más grande para culminar este proyecto de vida, agradezco todo lo vivido a tu lado, me quedo con los bellos momentos, gracias por compartir conmigo tu linda familia, te deseo mucho éxito y felicidad. Te quiero.

A Pascus mi compañero incondicional, que no pudo esperar mi regreso, te voy a echar tanto de menos..¡¡ mugrosito!!

..... y a todas aquellas personas que de una u otra manera estuvieron en mi andar y ahora forman parte de mis recuerdos.

***¡¡GRACIAS!!***

a todos ustedes quiero dedicar un poema que he adoptado desde mi tesis de licenciatura..

## **En el Camino...**

*En el camino aprendí, que llegar alto no es crecer, que mirar no siempre es ver, ni escuchar es oír.*

*Ni lamentarse es sentir, Ni acostumbrarse es querer.*

*En el camino aprendí, que la humildad no es sumisión, que cobardía no es paz, ni ser feliz sonreír.*

*Y que peor que mentir, es silenciar la verdad.*

*En el camino aprendí que no puedes hacer que alguien te ame. Todo lo que puedes hacer es ser alguien amoroso.*

*Lo que cuenta no es lo que tienes en la vida, sino a quien tienes en tu vida.*

*En el camino aprendí que no debes compararte a ti mismo con lo mejor que los otros pueden hacer.*

*Aprendí que siempre debes despedirte de los seres queridos con palabras amorosas, porque puede ser la última vez que los veas.*

*En el camino aprendí que siempre puedo seguir adelante mucho después de que pensaba que ya no podía.*

*Aprendí que, o controlas tu actitud, o esta te controla a ti.*

*En el camino aprendí que la verdadera amistad continua creciendo, incluso a pesar de las distancias más grandes.*

*Aprendí que la madurez tiene mucho que ver con las clases de experiencia que has tenido y con lo que has aprendido de ellas.*

*En el camino aprendí que las familias no son sólo biológicas, ya que personas no emparentadas conmigo pueden preocuparse por mí, amarme y enseñarme a creer en la gente de nuevo.*

*En el camino aprendí que no siempre bastara con perdonar y ser perdonado por los demás. A veces será necesario aprender a perdonarme a mí misma.*

*Aprendí que dos personas pueden estar viendo la misma cosa y ver algo totalmente diferente.*

*En el camino aprendí que aun cuando pienses que ya no tienes nada más que dar, si un amigo te pide ayuda, encontraras la fuerza para hacerlo.*

*En el camino aprendí que los títulos en una pared, no te hacen un ser humano decente, ni superior a los demás.*

*Aprendí que es difícil marcar el límite entre ser amable para no herir los sentimientos de la gente, y defender aquello en lo que crees.*

*Y en el camino aprendí que debo comenzar a vivir mi sueño, para dejar de soñar mi vida.*

*Porque aún queda mucho por hablar, por hacer, por soñar, por compartir...*

*ANONIMO*

# ÍNDICE

Pág.

<b>1. Introducción</b> .....	
<b>2. Revisión Bibliográfica</b> .....	
<b>2.1. Desarrollo embrionario del páncreas</b> .....	
2.1.1. Porción Exocrina.....	
2.1.2. Porción Endocrina.....	
2.1.3. Conductos pancreáticos.....	
<b>2.2. Desarrollo embrionario del páncreas humano</b> .....	
<b>2.3. Estudio histológico del páncreas</b> .....	
2.3.1. Porción Exocrina .....	
2.3.2. Porción Endocrina .....	
<b>2.4. Función pancreática</b> .....	
<b>2.5. Anatomía y topografía del páncreas del cerdo</b> .....	
2.5.1. Conductos pancreáticos.....	
2.5.2. Vascularización .....	
2.5.3. Inervación .....	
2.5.4. Sistema Linfático .....	
<b>2.6 Anatomía y topografía del páncreas humano</b> .....	
2.6.1. Conductos pancreaticos.....	
2.6.2. Vascularización.....	
2.6.3. Inervación.....	
2.6.4. Sistema Linfático.....	
<b>2.7. Anatomía seccional del páncreas TC y RM</b> .....	
2.7.1. Tomografía computerizada (TC).....	
2.7.2. Resonancia Magnética (RM).....	
<b>2.8. Anatomía endovascular del páncreas</b> .....	

2.9. Vías de abordaje en el empleo de nuevas terapias.....	
<b>3. Material y Métodos.....</b>	
<b>3.1. Estudio para definir la anatomía topográfica y la histología del páncreas porcino.....</b>	
3.1.1. Estudio in vitro mediante disecciones regladas transperitoneales.....	
3.1.2. Estudio in vivo, mediante técnicas de diagnóstico por imagen.....	
3.1.3. Estudio in vitro mediante técnicas de anatomía seccional.....	
3.1.3.1. Técnica de obtención y conservación de cortes transparentes .....	
3.1.3.1.1. Técnica de P-40.....	
3.1.3.1.2. Técnica E12.....	
3.1.4. Estudio Histológico del páncreas porcino.....	
<b>3.2. Estudio para definir la anatomía vascular del páncreas porcino .....</b>	
3.2.1. Estudio in vitro mediante técnica de inyección vascular .....	
3.2.2. Estudio “in vivo” mediante técnicas endovasculares de radiología intervencionista en los vasos pancreáticos.....	
<b>3.3. Estudio para evaluar las vías de el abordaje endovascular al páncreas porcino.....</b>	
3.3.1. Estudio in vivo mediante técnicas de marcaje nuclear.....	
3.3.2. Estudio “in vivo” mediante técnicas de transfección por adenovirus GFP y B. galacoridasa.....	
<b>3.4. Estudio estadístico.....</b>	
<b>4. Resultados.....</b>	
<b>4.1. Anatomía topográfica e Histología del páncreas porcino.....</b>	
4.1.1. Resultados de las disecciones regladas transperitoneales.....	
4.1.2. Anatomía seccional del páncreas.....	
4.1.3. Histología del páncreas.....	
<b>4.2. Anatomía vascular del páncreas porcino.....</b>	
4.2.1. Resultados obtenidos en las corrosiones vasculares.....	
4.2.2. Resultados obtenidos de las angiografías.....	
<b>4.3. Evaluación de la vía de abordaje endovascular al páncreas porcino.....</b>	

4.3.1. Resultados obtenidos tras la administración de Hoechst.....	
<b>5. Discusión.....</b>	
<b>6. Conclusiones.....</b>	
<b>7. Resumen.....</b>	
<b>8. Summary.....</b>	
<b>9. Bibliografía.....</b>	

## 1 INTRODUCCIÓN

La prevalencia de la diabetes mellitus se está incrementando hasta adquirir proporciones epidémicas en el mundo. Se estima que actualmente 100 millones de personas padecen la enfermedad, debido a la incapacidad de las células  $\beta$  del páncreas de secretar insulina, hormona fundamental para el control de la glucemia. En la actualidad no existe un tratamiento curativo de la diabetes sino que el pronóstico de los pacientes queda supeditado al control de su glucemia mediante tratamiento sustitutivo. Recientemente, las investigaciones sobre el tratamiento de pacientes con diabetes mellitus tipo 1, basadas en el transplante de islotes pancreáticos, ha potenciado el interés por utilizar células capaces de producir insulina (Hirshberg et al. 2002, Tal et al. 2004, Maleux et al. 2005). Por otro lado, la transferencia de material génico en el páncreas para inducir la regeneración de células  $\beta$  abre la puerta a nuevos tratamientos en la diabetes tipo 1 y tipo 2 (Ayuso et al. 2004, Loiler et al. 2005, Ayuso et al. 2006). Estas nuevas intervenciones en diabetes, terapias celular y génica, son actualmente de gran interés y presentan un alto potencial. Sin embargo, existen importantes obstáculos para su aplicación debido a su situación anatómica y la estructura del páncreas (Loiler et al. 2005).

El empleo de modelos animales constituye una herramienta esencial para la investigación y desarrollo de las terapias génica y celular como tratamientos efectivos de la diabetes (Larsen et al. 2002, Tal et al. 2004). En este sentido, los roedores han sido ampliamente utilizados para el estudio de la diabetes. Sin embargo, no reflejan la respuesta propia de los mamíferos superiores ante diferentes tratamientos (Tal et al. 2004, Loiler et al. 2005). Por ello, el empleo de animales superiores como modelos en investigación preclínica supone un valioso complemento a los resultados obtenidos en roedores. El cerdo supone un modelo ideal, ya que muchos de sus sistemas orgánicos así como sus respuestas fisiológicas y patofisiológicas son muy similares a las de la especie humana (Larsen et al. 2002). El presente trabajo tiene como **Objetivo General** *“Profundizar en el conocimiento de la anatomía clínica del páncreas porcino, como modelo animal en el tratamiento de enfermedades pancreáticas aplicando técnicas quirúrgicas mínimamente invasivas”*

La tecnología de imagen basada en la tomografía computarizada (TC) y la resonancia magnética nuclear (RM) se encuentra en una fase de gran expansión gracias, en parte, al desarrollo de nuevos marcadores moleculares que permiten la obtención de imágenes sumamente sofisticadas en tiempo real. Sus aplicaciones abarcan desde el estudio de los mecanismos fisiopatológicos subyacentes al desarrollo de una enfermedad hasta mejoras en su diagnóstico, así como en el seguimiento y evaluación de la biodistribución de células autólogas en la terapia de regeneración. No cabe duda que la resonancia magnética va a convertirse pronto en una herramienta básica en el estudio



experimental de las enfermedades pancreáticas, su diagnóstico y pronóstico, así como en el seguimiento de la respuesta a terapias celulares en animales de experimentación, tales como el cerdo. Sin embargo, actualmente son necesarios estudios de anatomía topográfica y seccional que permitan una correcta interpretación de las imágenes de TC y RM de la región pancreática en esta especie. Así pues planteamos como primera hipótesis de este trabajo un estudio de la anatomía seccional y topográfica del páncreas en el cerdo, mediante técnicas anatómicas y técnicas de diagnóstico por imagen (TC y RM), aportará datos suficientes para interpretar con precisión las imágenes de TC y RM obtenidas *in vivo* en el seguimiento y evaluación de células transplantadas. Por ello el **primer objetivo específico** en este proyecto será “*Definir la anatomía topográfica y seccional del páncreas porcino*”, para lo cual aplicaremos técnicas anatómicas como disecciones regladas, criosecciones y técnicas de plastinación E-12 y P-40, en combinación con estudios seccionales y tridimensionales de TC y RM.

Resulta ampliamente aceptado entre los investigadores que el éxito de las terapias celular y génica en el páncreas dependen, en gran medida, de la correcta elección de la vía de administración (Tal et al. 2004, Ayuso et al. 2006). Sin embargo, hasta ahora no existen vías efectivas y seguras de abordaje al páncreas que no ocasionen efectos no deseados. La inyección sistémica vía arterial o venosa afecta de forma no deseada a otros órganos (Ayuso et al. 2004). La inyección directa en el parénquima del páncreas, utilizada por algunos autores (Wang et al. 2004), incrementa la toxicidad y lesiona el órgano (Loiler et al. 2005). La inyección en la circulación arterial o

venosa pancreática indicada por algunos autores (Ayuso et al. 2006), tiene como factores limitantes el empleo de cirugía convencional para acceder a la circulación pancreática y la necesidad de clampar dicha circulación durante la administración, para aislarla del resto de vasos sanguíneos. La inyección por los conductos pancreáticos también ha sido empleada en rata y ratón para la administración de terapia génica, no obstante se trata de una vía retrógrada y la presión de inyección necesaria es tan alta que provoca lesiones en el páncreas (Loiler et al. 2005). Parece claro que para que estas terapias, celular y génica, se puedan aplicar en la clínica son necesarias investigaciones en fase preclínica con animales superiores, al objeto de identificar potenciales vías de administración endovascular mediante técnicas mínimamente invasivas. En este sentido, planteamos como segunda hipótesis de trabajo que el estudio de la vascularización del páncreas en el cerdo, con técnicas anatómicas y angiográficas ha de aportar datos suficientes para desarrollar un abordaje intraarterial *in vivo* que facilite la aplicación selectiva de células madre o productos génicos en el páncreas mediante técnicas de mínima invasión. Por ello el **segundo objetivo específico** que se plantea en este proyecto será “*Precisar la anatomía vascular del páncreas porcino*”, para lo cual será necesario el utilizar técnicas de corrosión vascular así como de técnicas angiográficas *in vivo*.

Una vez identificada una posible vía de abordaje intraarterial al páncreas en el modelo porcino, será necesario su validación como ruta eficaz que permita asegurar su empleo en investigaciones con terapia génica y celular. Es preciso determinar en qué proporción se mantienen en páncreas los elementos

terapéuticos transferidos, y si esta vía de abordaje evita su pérdida al pasar a circulación sistémica tras ser administrados. En este sentido planteamos como tercera hipótesis de trabajo que la aplicación selectiva de marcadores nucleares por vía intrarterial permitirá conocer la distribución de los elementos terapéuticos transferidos en páncreas, así como estudiar la población de células pancreáticas afectadas por este abordaje. Por otro lado, permitirá evaluar las posibles lesiones iatrogénicas como indicadores de la seguridad de esta vía de abordaje endovascular. Por tanto, **tercer objetivo específico** que se plantea en este proyecto será “*Evaluar las vías de abordaje endovascular al páncreas porcino*”, para lo cual recurriremos, mediante técnicas angiográficas de mínima invasión, a la administración de marcadores nucleares.

## **OBJETIVOS**

### Objetivo general:

- Profundizar en el conocimiento de la anatomía clínica del páncreas porcino como modelo animal en el tratamiento de enfermedades pancreáticas y su aplicación a las técnicas quirúrgicas mínimamente invasivas.

### Objetivos específicos y actividades propuestas para alcanzar cada objetivo específico:

- I. **Definir la anatomía topográfica y seccional del páncreas porcino.**
  - I.I. Estudio *in vitro* mediante disecciones regladas transperitoneales.
  - I.II. Estudio *in vivo* mediante técnicas de diagnóstico de imagen (TC y RM)

I.III. Estudio *in vitro* mediante técnicas de anatomía seccional por transluminación

I.IV. Estudio histológico del páncreas porcino

**II. Definir la anatomía vascular del páncreas porcino.**

II.I. Estudio *in vitro* mediante técnicas de inyección vascular

II.II. Estudio *in vivo* mediante técnicas endoluminales de radiología intervencionista en los vasos pancreáticos

II.III. Estudio morfométrico de los vasos pancreáticos.

**III. Evaluar las vías de abordaje endovascular al páncreas porcino.**

III.I. Estudio *in vivo* mediante técnica de marcaje molecular

## **2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 DESARROLLO EMBRIONARIO DEL PÁNCREAS**

Cuando el tubo endodérmico y la hoja del mesodermo esplácnico que lo envuelve se asocian en estrecha síntesis para estructurar las paredes del intestino, se asiste a un rápido crecimiento de éste en longitud, expresado en asas o inflexiones cada vez más manifiestas a medida que avanza el desarrollo. En estos momentos, desde la membrana orofaríngea a la membrana cloacal, el tubo intestinal se divide convencionalmente en tres segmentos fundamentales:

1. Intestino craneal, se inicia como faringe primitiva y se prolonga más allá del septo transversal, incluyendo el esófago y el estómago primitivos.
2. Intestino medio, comprende fundamentalmente las asas duodenal e intestinal primitiva (asa umbilical) del intestino.
3. Intestino caudal, termina transformado en cloaca.

Concretamente, la primera porción del intestino medio se transforma en duodeno primitivo, que también crecerá en longitud conformando un asa duodenal que precede al asa umbilical del intestino. En el punto de máxima inflexión del primordio duodenal se operan importantes interacciones celulares meso-endodérmicas en dos áreas muy circunscritas y próximas entre sí, predeterminadas a proliferar los esbozos parenquimatosos del hígado y del páncreas, o sea, los primitivos BROTOS HEPATO-PANCREATICOS. Aunque proliferan y se diferencian independientemente, lo hacen bajo un mismo efecto inductor; de ahí la interrelación funcional de ambos brotes en los procesos metabólicos fundamentales (de glucogénesis y glucogenolisis) en que se hallan implicados. (Sandoval, 2000).

### **2.1.1 Porción Exocrina.**

Los brotes primarios del páncreas son los divertículos pancreáticos dorsal y ventral, precursores de sus lóbulos izquierdo y derecho. La mayor parte de las células parenquimatosas que derivan de dichos divertículos se ramifican en densos cordones, que por crecimiento y consiguiente ahuecamiento se transforma directamente en acinis secretores y tubos excretores (fracción secretora o exocrina del páncreas). El tejido exocrino del páncreas es tubular, ramificado y alveolar. Las células individuales son células piramidales en los extremos de los alveolos contienen gránulos, que son convertidos en enzimas al ser liberados. (Hildebrand M. 1982, Sandoval, 2000).

### **2.1.2 Porción Endocrina.**

Únicamente los elementos celulares que no entran a formar parte de los cordones parenquimatosos, sino que quedan diseminados entre estos últimos, se erigen en endocrinocitos a la vez que se reagrupan en islotes pancreáticos (de Langerhans), integrando de este modo la fracción endocrina del páncreas o páncreas endocrino. Recientes investigaciones han demostrado que los elementos precursores de los endocrinocitos pancreáticos colonizan las paredes del intestino primitivo a distintos niveles, que confluyen hacia las áreas pancreáticas del endodermo duodenal. Cuando proliferan los cordones parenquimatosos van siendo arrastrados por estos últimos, lo que explica que los islotes aparezcan dispersos entre los acinis glandulares en formación. En los islotes de referencia pueden ya diferenciarse los tipos celulares que los integran: los endocrinocitos pancreáticos alfa ( $\alpha$ ) y los endocrinocitos pancreáticos beta ( $\beta$ ), productores de las hormonas glucagón e insulina, respectivamente. Ambas hormonas alcanzarán, vía vena porta, los epitelocitos hepáticos, estimulando en éstos la actividad glucogenética o glucogenolítica, según interese, en armonía con los niveles actuales de glucosa en sangre (Schoenwolf and Watterson 1989, Sandoval 2000, Monterde 2002)

### **2.1.3 Conductos Pancreáticos.**

El divertículo pancreático dorsal crece en dirección dorsal desde la porción craneal del duodeno primitivo entre las hojas mediales del celoma (mesogastrio dorsal), haciéndolo de derecha a izquierda para conformar el definitivo lóbulo

izquierdo del páncreas. Por su parte, el divertículo pancreático ventral prolifera en sentido opuesto para formar los correspondientes brotes glandulares determinantes del lóbulo derecho del páncreas. Ambos divertículos se expresan inicialmente en un denso cordón central de células parenquimatosas, del que a su vez derivan numerosas ramificaciones secundarias terminadas en agregados o acúmulos esféricos. Más tarde, por ahuecamiento progresivo del cordón central se forman los conductos pancreático (en el lóbulo derecho) y pancreático accesorio (en el lóbulo izquierdo), que colectan los jugos pancreáticos y enzimas elaborados por las células de los acinis a las papilas duodenales mayor y menor respectivamente (Schoenwolf and Watterson 1989).

Cuando durante su crecimiento los brotes pancreáticos se cruzan, buscando su posición y localización definitivas, se fusionan parcialmente en un cuerpo común. Dicha fusión afecta también a la porción o trayecto correspondiente de los conductos principal y accesorio que llegan a establecer anastomosis. De modo que, dependiendo de la especie puede desaparecer uno de los conductos pancreáticos o persistir ambos (Monterde 2002). De ahí las variaciones interespecíficas que se describen en el adulto en cuanto al desarrollo diferencial de uno u otro conducto pancreático y en el modo de desembocar en el duodeno (Hildebrand 1982, Schoenwolf and Watterson 1989, Sandoval 2000). El conducto pancreático accesorio será el único que se persista en el cerdo al igual que en el bovino, en tanto que en los canidos se convierte en el principal conducto (Schaller 1996).



## 2.2 DESARROLLO EMBRIONARIO DEL PÁNCREAS HUMANO

El páncreas, como el hígado, es un derivado endodérmico constituido por dos esbozos primitivos que acabarán fusionándose en un solo órgano.

De los dos esbozos, uno nace del brote hepático que en su día se convertirá en conducto colédoco y se denomina páncreas ventral; el otro, se origina directamente de la cara posterior del duodeno y se le llama páncreas dorsal (Corliss 1979, Amenta 1983; Balinsky and Fabian 1983).

El páncreas dorsal es el que aparece primero. Se inicia como un mamelón de la pared dorsal del duodeno primitivo, justamente del lugar que en el adulto se corresponde con la papila duodenal menor. Se sitúa, por lo tanto, en la parte del mesenterio primitivo que aquí se denomina mesoduodeno; pero como su crecimiento se dirige hacia atrás y hacia arriba, pronto invade el mesogastrio posterior (Jiménez 1976). El páncreas ventral, designado con este nombre porque surge del brote hepático, que a su vez prolifera de la pared ventral del duodeno, constituye un mamelón en la proximidad de su arranque duodenal. En el curso de la evolución, el esbozo ventral acompaña al conducto colédoco en el cambio de emplazamiento que sufre su desembocadura intestinal; es decir, que como éste, el brote pancreático se desplaza hacia la parte anterior. Cuando esto acontece, ambos esbozos del páncreas se fusionan, quedando el ventral, que es más pequeño, caudalmente al dorsal, y por su menor tamaño en relación con la parte de éste más próxima al duodeno. De esta manera, se constituye la glándula definitiva en la que la cola, el cuerpo y la porción

posterior de la cabeza son pertenecientes al páncreas dorsal mientras que la parte más inferior de la cabeza es originada por la ventral (Corliss 1979, Amenta 1983).

Los brotes pancreáticos que se ramifican profusamente son macizos inicialmente, pero más tarde se canalizan formando los acinis y los conductos ramificados intraglandulares. Como consecuencia de la canalización se constituye un conducto excretor en cada esbozo, que lo recorre longitudinalmente para desembocar el dorsal directamente en el duodeno y el ventral en la porción más proximal del colédoco (Corliss 1979, Amenta 1983; Balinsky and Fabian 1983).

Cuando ambos esbozos se funden también lo hacen los dos conductos colectores centrales, lo que trae consigo la formación del conducto principal o de Wirsung, a base del canal del páncreas ventral más los dos tercios distales perteneciente al dorsal; su desembocadura, por ende, se hace en la papila mayor del duodeno. La porción proximal del canal del esbozo dorsal, independizándose o no del resto, formará el conducto pancreático accesorio o de Santorini que desemboca en la carúncula duodenal menor.

Algunas agrupaciones celulares de los primitivos esbozos tubulares se aíslan del resto y constituyen los primeros islotes de Langerhans, que no alcanzan la madurez y en su mayoría degenera, siendo substituidos por islotes secundarios que serán definitivos.

Cuando el duodeno gira a la derecha para fusionarse su meso a la pared posterior del abdomen, la cabeza del páncreas, que está incluida en el mesoduodeno, experimenta el mismo giro con lo que en el adulto aparece retroperitonealmente. El cuerpo y la cola pancreáticos, que se alojan en el mesogastrio posterior, siguen el mismo proceso que afecta a éste (Jiménez, 1976).

## **2.3 ESTUDIO HISTOLÓGICO DEL PÁNCREAS**

El páncreas es una glándula tubuloacinar compuesta, encapsulada y lobulada, en la que se distinguen dos porciones (exocrina y endocrina).

### **2.3.1 Porción Exocrina**

El páncreas exocrino, que constituye la mayor parte de la glándula está formado por unidades secretoras (ácinos) y conductos intralobulillares. Las unidades secretoras son tubuloacinares, siendo la porción tubular más prominente en los rumiantes.

Las células epiteliales secretoras son generalmente de forma piramidal con un núcleo esférico próximo a su base. El citoplasma que rodea la región nuclear es intensamente basófilo y contiene abundante retículo endoplásmico y numerosas mitocondrias. La región apical de las células posee gránulos de cimógeno eosinófilos envueltos por una membrana, que están llenos de proenzimas sintetizadas en el retículo endoplásmico. Tinciones especiales

revelan un extenso complejo de Golgi entre el núcleo y los gránulos de zimógeno (Amenta 1983). La unidad secretora tubuloacinar tiene una luz pequeña y se continúa con un conducto intercalado. A menudo este conducto comienza con células aplanadas que están invaginadas en la luz del acino, designándose como células centroacinares (el páncreas es la única glándula que presenta estas células). Los conductos intercalados se unen a los intralobulillares, están revestidos por un epitelio cúbico bajo y se continúan con los conductos interlobulillares y colectores, los cuales poseen un epitelio cilíndrico (Williams and Warwick 1985 ).

### **2.3.2** Porción endocrina

Durante el desarrollo, las células endocrinas emigran desde el sistema de conductos y se agrupan alrededor de capilares para formar grupos aislados de células distribuidas por todo el páncreas glandular. Los grupos celulares endocrinos se conocen con el nombre de islotes pancreáticos o de Langerhans. Su tamaño es variable, en los humanos son más numerosos en la cola del páncreas (Wischnitzer 1980, Wheeler et al 1987) y en la periferia del órgano (Escolar et al 1974). En la especie porcina se han descrito diferencias entre razas en el número de islotes pancreáticos así como del tamaño de los mismos (Kirchhof et al. 1994, Ulrichs et al. 1995). Razas como la German Landrace presentan una densidad de islotes (porcentaje de tejido endocrino sobre la masa total del páncreas) dos veces superior a otras razas como Durock, Pietrain y Landrace (Ulrichs et al. 1995).

Estos islotes que tienen diversas formas, generalmente esférica u ovoide, pueden reconocerse histológicamente por su distinta coloración, las células del islote se disponen en cordones irregulares anastomosados formados por células alfa ( $\alpha$ ), beta  $\beta$ , delta ( $\delta$ ) (Wheater et al. 1987, Dellman 1994).

Las células  $\alpha$  productoras de glucagón, contienen gránulos insolubles en alcohol. Se tiñen de color rojo brillante con el tricrómico de Masson y la aldehído-fucina de Gomori, y muestran una reacción positiva con el suero antiglucagón. A nivel de microscopía electrónica, los gránulos están limitados por una membrana y tienen un centro oscuro electrodensó rodeado por una zona periférica más clara. En el polo vascular de la célula se concentran los gránulos, un pequeño retículo endoplasmático rugoso (rER) el aparato de Golgi y algunas mitocondrias largas y delgadas. El núcleo suele estar profundamente indentado o es lobulado. Las células  $\alpha$  representan aproximadamente del 5 al 30% de la población celular del islote; en el cerdo su número desciende desde casi el 50% en el animal recién nacido hasta el 8-20% en el adulto. Los islotes pancreáticos del proceso uncinado del perro no poseen células  $\alpha$ ; en el caballo estas células a menudo se localizan en el centro del islote y en el ternero tienden a disponerse en la periferia.

Las células  $\beta$  productoras de insulina presentan límites más confusos de forma poligonal. Son con mucho las células más numerosas de los islotes pancreáticos. contienen gránulos solubles en alcohol que se tiñen de color naranja oscuro con el tricrómico de Mallory y púrpura intenso con la aldehído-fucina de Gomori, manifestando una reacción inmunohistoquímica positiva a la

insulina. En algunas especies, los gránulos de las células  $\beta$  son sólo ligeramente diferentes en tamaño y densidad electrónica a los gránulos de las células  $\alpha$ .

Las células  $\delta$  son relativamente escasas, se localizan principalmente en la periferia de los islotes y sintetizan somatostatina (Dellman 1994).

Los islotes pancreáticos están vascularizados por una densa red capilar que transportan agentes vehiculados por la sangre, nutrientes y oxígeno a las células de los islotes. Los vasos linfáticos y sanguíneos principales discurren, junto con los conductos y los nervios, por el tejido conjuntivo interlobular y con sus ramas irrigan los lóbulos de la glándula. Se ha demostrado que en el ratón surgen de una a tres arteriolas aferentes de las ramas arteriales para irrigar cada islote, antes de lo cual pueden hacerlo en el ácino. Una vez en el interior del islote, se dividen en una red capilar tan rica que recuerda a la red glomerular renal (Kivisaari, 1979). Dependiendo del tamaño del islote, existe también un modelo de circulación paralela en cuyo caso el lecho capilar de los islotes drena en una a seis vénulas, que se unen para acabar en la vena intralobular adyacente. Se dice que el flujo de los capilares de los islotes es intermitente, produciéndose una interrupción local por la invasión de la luz capilar por las células endoteliales. Los capilares de los islotes son fenestrados (Williams and Warwick 1985, Weaver 1997).

Los vasos linfáticos se encuentran solamente alrededor de los islotes pancreáticos. Las fibras nerviosas simpáticas del plexo celíaco llegan a los

islotos con los vasos sanguíneos. Mientras que las fibras parasimpáticas de origen vagal penetran en los islotes con independencia de la vascularización y en ocasiones terminan en contacto con las células de los islotes. Los axones en yuxtaposición con las células de los islotes son denominados complejos neuroinsulares. El significado funcional de la inervación de los islotes pancreáticos no se conoce (Williams and Warwick 1985 ; Wheater et al. 1987; Dellman 1994).

## **2.4 FUNCIÓN PANCREÁTICA**

La secreción pancreática se produce de manera continua, estando su ritmo regulado por influencias hormonales y nerviosas. La secretina, hormona liberada por algunas células endocrinas del duodeno, es la responsable de la secreción de un jugo acuoso, abundante y rico en bicarbonato. La colecistoquinina-pancreocimina, producida también en las células endocrinas duodenales estimula la secreción de un jugo pancreático rico en enzimas. La gastrina segregada por las células endocrinas de la mucosa pilórica ejerce sobre el páncreas una acción similar a la de la colecistoquinina-pancreocimina (Wheater P. et al 1987). El páncreas posee funciones exocrinas y endocrinas. El componente exocrino, con mucho el más grande, produce el jugo pancreático que se libera en la parte proximal del duodeno. Contiene enzimas que desdoblan las proteínas, los carbohidratos y las grasas, incluyendo amilasa, lipasa y tripsina que actúan sobre los productos de la digestión gástrica y que son vertidas al duodeno a través del conducto pancreático. La alcalinidad de la secreción pancreática se debe a su riqueza en iones

bicarbonato e interviene en la neutralización del quimo, que es ácido al penetrar en el intestino delgado procedente del estómago. Las enzimas pancreáticas degradan las proteínas, los hidratos de carbono, los lípidos y los ácidos nucleicos mediante el proceso de la digestión intestinal. Lo mismo que sucede con la pepsina en el estómago, las enzimas proteolíticas pancreáticas (tripsina y quimiotripsina) se segregan en forma inactiva. La enteroquinasa, una enzima segregada por la mucosa duodenal, activa a la protripsina y la convierte en tripsina; posteriormente, la tripsina activa a la proquimiotripsina y la transforma en quimiotripsina. Gracias a este mecanismo se evita la autodigestión del páncreas (Amenta 1983).

El componente endocrino lo constituyen los islotes pancreáticos (de Langerhans) que elaboran principalmente la insulina (por las células beta) y el glucagón (por las células alfa) (Krahmer and Shrodor, 1976, Sandoval 2000, Dyce et al. 1999, Frandson 1988, Climent et al. 2005). La insulina hormona producida por las células  $\beta$  disminuye el nivel de azúcar sanguíneo y, por consiguiente, el nivel de azúcar en la orina, facilitando el almacenamiento del glucógeno en el hígado y en el músculo, y su transformación en grasa para su almacenamiento como tejido adiposo.

La pancreatectomía da lugar a una diabetes mellitus, una grave alteración del metabolismo de los carbohidratos, caracterizada por un aumento del nivel de glucosa en la sangre (hiperglucemia) y un exceso de azúcar en la orina (glucosuria). En ausencia de insulina hay una disminución simultánea del glucógeno hepático y de otros tejidos. Esta situación puede reproducirse



experimentalmente mediante la administración de aloxán que destruye casi selectivamente las células  $\beta$ . Un exceso de insulina puede producir un rápido descenso del nivel de azúcar sanguíneo con posteriores convulsiones y muerte, a no ser que este exceso se contrarreste con la administración de azúcar.

Las células  $\alpha$  de los islotes pancreáticos producen glucagón, que antagoniza los efectos de la insulina mediante el desdoblamiento del glucógeno hepático y el incremento del nivel de glucosa en sangre. La administración de cloruro de cobalto produce una destrucción selectiva de las células  $\alpha$ .

La somatostatina, derivada de las células  $\delta$ , tiene una acción inhibitoria sobre la secreción de insulina y glucagón. Este polipéptido pancreático estimula la secreción gástrica e inhibe la motilidad intestinal y la secreción biliar (Dellman 1994).

## **2.5 ANATOMÍA Y TOPOGRAFÍA DEL PÁNCREAS DEL CERDO**

El páncreas del cerdo es un órgano retroperitoneal (Traverso & MacFarlane 1987, Ferrer et al. 2008) que cruza la pared dorsal de la cavidad abdominal (Dyce et al. 1999; Getty 2001), ventral a las vertebrae lumbares primera, segunda y tercera. Dos tercios del páncreas se localizan a la izquierda del plano medio (Dyce et al. 1999), teniendo como relaciones el fondo del estómago (Frandsen 1988), el bazo y el duodeno (Frandsen 1988, Shively 1993, Getty 2001). Su peso oscila entre 100 - 150 gramos dependiendo de su

estado nutricional (Nickel, et al. 1979, Skjennald A. 1982) y su forma es casi triangular (Getty 2001), aunque otros autores refieren un rango de peso entre 190 y 698 gramos (Ferrer et al. 2008,). Presenta dos caras (dorsal y ventral) y cuatro bordes (craneal, caudal, derecho e izquierdo) (González et al., 1961, Schaller 1996). Su apariencia recuerda a una glándula salivar (Dyce et al. 1999; Kraemer and Shrodor 1976; Barone 1976), especialmente a la glándula parótida (González et al., 1961), aunque su consistencia es más blanda (Barone 1976, Dyce et al. 1999, Getty 2001;) y su coloración es gris amarillento (Kraemer and Shrodor 1976, Dyce et al. 1999). Gran parte del páncreas está rodeado de grasa y puede estar cubierto por serosa en la vecindad del duodeno( Dyce et al. 1999, Getty 2001).

Presenta una limitación de crecimiento y de expansión dado que se localiza entre las porciones craneal y descendente del duodeno (Sandoval 2000). Su conformación es aplanada dorsoventralmente y está constituido por un cuerpo y dos lóbulos derecho e izquierdo (Dyce et al. 1999, Sandoval 2000, Climent et al. 2005), más o menos diferenciables. Otros autores, extrapolando la nomenclatura humana, dividen al páncreas porcino en cabeza, cuerpo y cola (Gänger et al. 1987). Incluso hay autores como Ferrer et al. 2008 que, sin considerar la Nómina Anatómica Veterinaria, dividen el páncreas de esta especie en un lóbulo duodenal, un lóbulo esplénico y un lóbulo conector entre ambos, o dividiendo el páncreas en lóbulos, lóbulo derecho, izquierdo, medio y de unión (Skjennald A. 1982).

**El cuerpo** (corpus pancreatis) se dispone sobre la curvatura menor del estómago (Nickel et al., 1979) y la parte craneal del duodeno (Nickel et al. 1979, Shively 1993, Schaller 1996, Sandoval 2000, Climent et al. 2005). En el cerdo, el cuerpo del páncreas es muy amplio a diferencia de otras especies, encontrándose perforado oblicuamente por el llamado anillo pancreático (anulus pancreatis) que da acceso a la vena porta (González et al. 1961, Nickel et al. 1979, Shively 1993, Schaller 1996, Sandoval 2000) y se relaciona con la raíz del mesenterio (Getty 2001).

**El lóbulo izquierdo** (lobus pancreatis sinister) es casi circular y bastante desarrollado, está relacionado con la porción izquierda del estómago, la extremidad dorsal del bazo, el polo craneal del riñón izquierdo, el colon transversal y la base del colon ascendente (Nickel et al. 1979, Dyce et al. 1999, Climent et al. 2005).

**El lóbulo derecho** (lobus pancreatis dexter) es ancho y corto (Krahmer and Shrodor 1976, Nickel et al. 1979, Shively 1993), está unido a la flexura craneal del duodeno y es en este punto por donde su conducto desemboca al intestino (González et al. 1961, Getty 2001). Cranealmente está en contacto con el hígado y puede llegar a alcanzar el polo craneal del riñón derecho, caudalmente (Nickel et al. 1979, Dyce et al. 1999).

Entre el duodeno y el páncreas discurren los vasos pancreaticoduodenales de los que parten ramas para irrigar ambos órganos. La relación con los vasos es tan estrecha que, en ocasiones, para realizar una pancreatometomía parcial

derecha es necesario extirpar la parte del duodeno relacionada con la porción del páncreas (Climent et al. 2005).

### **2.5.1 Conductos pancreáticos:**

El cerdo presenta únicamente el conducto pancreático accesorio que emerge por la extremidad del lóbulo derecho del órgano en la papila duodenal menor, ubicada en el duodeno descendente, 20-25 cm. distal al píloro (Nickel et al. 1979, Sandoval 2000) y a unos 20 cm. del conducto colédoco (Climent et al. 2005).

### **2.5.2 Vascularización:**

Las arterias del páncreas proceden del tronco celiaco y de la arteria mesentérica craneal (Nickel et al. 1979). El cuerpo y el lóbulo izquierdo está irrigado por las arterias celiaca, hepática y esplénica, que desprenden ramas pancreáticas (Skjennald, A. 1982, Schaller 1996, Climent et al. 2005). Schaller (1996) indica que la irrigación del lóbulo izquierdo del páncreas la realiza una única rama pancreática, a lo que Shokouh-Amiri (1989) denomina arteria pancreática principal (magna). Esta arteria deriva de la arteria esplénica, si bien su arranque es sumamente variable pudiendo aparecer como rama de la arteria hepática común (Traverso and MacFarlane 1987, Shokouh-Amiri, Rahimi-Saber and Andersen 1989) o del tronco de la arteria celiaca (Traverso and MacFarlane 1987). El lóbulo derecho lo irrigan la arteria mesentérica craneal y la arteria hepática. De la arteria mesentérica craneal se desprende la arteria

pancreaticoduodenal caudal y de la arteria hepática la arteria gastroduodenal, que su vez da origen a la arteria pancreaticoduodenal craneal (Schaller 1996; Climent et al. 2005).

### **2.5.3 Inervación:**

La glándula esta inervada por fibras simpáticas que disminuyen su actividad secretora, el plexo pancreático procedente del plexo celiaco, y parasimpáticas procedentes del vago que la estimulan (Nickel et al., 1979, Dyce et al., 1999, Schaller 1996, Sandoval 2000).

El ganglio celiaco y el mesentérico craneal son agrupaciones bastante voluminosas de células nerviosas localizadas alrededor de la a. celiaca. El plexo pancreático es la prolongación del plexo celiaco que acompaña a las arterias pancreáticas (Schaller 1996). El plexo hepático que acompaña a la arteria hepática y a sus ramas inerva al hígado; pero también emite ramas hacia la curvatura mayor del estómago y forma el plexo pancreático (Nikel et al 1988).

El nervio vago, dividido en los troncos vagal dorsal y vagal ventral pasa por la curvatura del estomago, dividiéndose en un ramo gástrico parietal que se distribuye por la cara parietal del estómago, un ramo pilórico por la región pilórica y un ramo duodenal por el duodeno y el páncreas (Nickel et al 1988, Schaller 1996).

#### 2.5.4 Sistema Linfático

Los vasos linfáticos del páncreas en el cerdo drenan principalmente a los nódulos linfáticos pancreaticoduodenales (Sandoval, 2000) y, en menor proporción, a los nódulos linfáticos esplénicos, gástricos y hepáticos pertenecientes al linfocentro celíaco (Nikel et al., 1979, Sandoval 2000) y a los nódulos mesentéricos caudales del linfocentro mesentérico caudal (Nikel et al. 1981, Schaller 1996, Dyce et al. 1999).

Los nódulos linfáticos pancreaticoduodenales aparecen distribuidos a lo largo del duodeno y algunos quedan incluidos en la sustancia glandular del páncreas. Reciben vasos aferentes del páncreas, duodeno y parte del estómago y omento; los vasos eferentes de los nódulos más craneales se dirigen a los nódulos celiacos, pertenecientes al grupo de nódulos relacionados con la arteria mesentérica craneal.

Los nódulos linfáticos esplénicos, de 1 a 10 en número, se disponen en el extremo dorsal del hilio esplénico. Miden de 0,2 a 2,5 cm (Nikel et al, 1981), recibiendo linfa del propio órgano y partes adyacentes del omento mayor, del estómago y del páncreas. (Dyce et al, 1999).

Los nódulos linfáticos gástricos están situados junto al cardias y en la curvatura menor del estómago. Se trata de 1 a 5 nódulos que miden alrededor de 0.3 a 6 cm, (Nikel, et al, 1981) y reciben linfa del estómago y parte del extremo caudal del esófago, diafragma y páncreas (Dyce et al, 1999).

Los nódulos linfáticos hepáticos, en número de 2 a 7, se localizan en el porta hepático, miden de 0,7 a 8.8 cm y drenan el hígado, parte del páncreas y la linfa procede de los nódulos pancreatoduodenales.

Los nódulos linfáticos mesentéricos caudales son de 7 a 12 nódulos y miden 2-12 mm de diámetro (Nikel, et al., 1981), se sitúan en el mesocolon y drenan la linfa del colon descendente y páncreas que se encuentra próximo. Los vasos eferentes se dirigen a los nódulos lumbares aórticos (Dyce et al., 1999).

## **2.6 ANATOMÍA Y TOPOGRAFÍA DEL PÁNCREAS HUMANO**

El páncreas es una glándula de unos 12-15 centímetros de largo situada en la parte alta del abdomen. Se dispone transversalmente en el espacio retroperitoneal detrás del estómago, entre el duodeno y el bazo, en una posición variable entre la primera y la tercera vértebra lumbar. A pesar de que es un órgano fijo, se moviliza unos centímetros con la respiración (Dobelbower & Bronn 1990), presenta forma casi triangular y su peso oscila entre 40 y 180g, con una media de 90g (Asencio et al. 2003).

Los órganos relacionados con la cara anterior del páncreas, de derecha a izquierda son: hígado, estómago, bazo, duodeno, yeyuno y colon transversal. Su cara posterior queda entre el hilio del riñón derecho, la vena cava inferior, la vena porta, la vena mesentérica superior, la aorta abdominal, el riñón izquierdo y el hilio del bazo.

El páncreas presenta una extremidad derecha ancha, **la cabeza**, una parte principal, **el cuerpo**, y una extremidad izquierda estrecha, **la cola**.

La cabeza se define como la porción situada a la derecha de los vasos mesentéricos superiores y se localiza a nivel de la segunda o tercera vértebra lumbar. El cuerpo pancreático se encuentra en la zona de la primera o segunda vértebra lumbar y técnicamente se define como la porción de páncreas situada a la izquierda de los vasos mesentéricos superiores. La cara anterior del cuerpo pancreático está cubierta por la pared posterior de la bolsa omental, que separa el páncreas del estómago. La cola alcanza la zona de la duodécima vértebra torácica, pudiendo extenderse por el epigastrio izquierdo hasta casi el bazo; es bastante móvil y su extremo está íntimamente relacionado con el hilio esplénico (Asencio et al. 2003).

### **2.6.1 Conductos pancreáticos:**

El sistema ductal consta de 20 a 30 conductillos situados en la cola, proyectados de izquierda a derecha a través del cuerpo donde se unen para formar el conducto pancreático principal (de Wirsung) (Williams and Warwick 1985). El conducto pancreático atraviesa el páncreas de izquierda a derecha, más cerca de la cara posterior que de la anterior, y termina relacionándose con el conducto colédoco a su derecha. Los dos conductos penetran la pared del duodeno descendente, normalmente en la zona de la segunda vértebra lumbar, y se unen para formar la ampolla de Vater (hepatopancreática), corta y dilatada. El extremo distal de ésta se abre en el vértice de la papila duodenal



mayor situada a unos 8-10 cm. del píloro. En la mayoría de humanos (90%), el páncreas presenta un conducto pancreático accesorio (de Santorini) que recibe las secreciones de la porción inferior de la cabeza del páncreas, se abre en el duodeno, unos 2 cm. por encima y en situación ligeramente más ventral con respecto a la papila duodenal mayor (Steer, 1989). El conducto de Santorini puede drenar directamente a la luz duodenal en la papila menor, o bien unirse al conducto de Wirsung. En el 60% de la población, los conductos pancreáticos se abren por separado en el duodeno, en el 30% el conducto de Santorini es ciego, por lo que el conducto de Wirsung recoge toda la secreción pancreática, y en el 10% restante es el conducto de Santorini el que canaliza la totalidad de la secreción de la glándula (Asencio et al. 2003).

#### 2.6.2 Vascularización:

El páncreas recibe la vascularización del tronco celiaco y de la arteria mesentérica superior. De **la cabeza** se encargan las dos arcadas de las arterias pancreaticoduodenales superiores. Son comúnmente dos ramas, la anterior nace de la arteria gastroduodenal y desciende por delante del surco que existe entre el duodeno y la cabeza del páncreas e irriga ambos órganos. Se anastomosa con la división anterior de la rama pancreaticoduodenal inferior de la arteria mesentérica superior. La arteria pancreaticoduodenal superior posterior nace en general independientemente de la gastroduodenal, se dirige hacia abajo y a la derecha por delante de la vena porta y del conducto colédoco. Desciende por la cara posterior de la cabeza del páncreas, enviando

ramas para la glándula y el duodeno, y cruza por detrás del colédoco. Se anastomosa con la rama posterior de la arteria pancreaticoduodenal inferior.

La arteria pancreaticoduodenal inferior toma su origen de la arteria mesentérica superior o de su primera rama yeyunal, a la altura del borde superior de la porción descendente del duodeno. Se divide pronto en una rama anterior y otra posterior. La rama anterior se dirige hacia la derecha por delante de la cabeza del páncreas y asciende para anastomosarse con la arteria pancreaticoduodenal superior anterior. La rama posterior discurre hacia arriba y a la derecha por detrás de la cabeza del páncreas, a la que perfora en ocasiones, y se anastomosa con la arteria pancreaticoduodenal superior posterior (Williams and Warwick 1985). La arteria prepancreática es una anastomosis entre la rama para la cabeza del páncreas de la arteria pancreática dorsal y la arteria pancreáticoduodenal superior anterior. **El cuerpo y cola** del páncreas reciben sangre de la arteria pancreática dorsal que se origina en la proximidad del inicio de la arteria esplénica y se dirige por detrás del cuello pancreático hacia abajo, quedando parcialmente incluida en el tejido pancreático. La arteria pancreática inferior es una rama de la arteria pancreática dorsal que se extiende hacia la izquierda por la superficie posteroinferior del cuerpo del páncreas. (Williams and Warwick 1985). La arteria pancreática magna deriva aproximadamente de la parte media de la arteria esplénica, se extiende hacia abajo hasta la cara dorsal del páncreas donde se subdivide, anastomosándose luego con la arteria pancreática inferior. La arteria de la cola del páncreas se origina en el extremo distal de la arteria

esplénica o en una de sus ramas terminales, anastomosándose en la cola del páncreas con la arteria pancreática inferior.

El drenaje venoso del páncreas se realiza a través de la vena porta. La sangre procedente de la cabeza del páncreas drena a las venas pancreaticoduodenales y hacia la vena mesentérica superior; el cuerpo y la cola drenan a la vena esplénica.

### **2.6.3 Inervación:**

Deriva del plexo celiaco y penetra en el órgano con ramas de las arterias pancreáticas. Junto a fibras aferentes, de las que no se sabe casi nada, existe una inervación eferente formada por fibras simpáticas posganglionares que derivan del ganglio celiaco y por fibras parasimpáticas preganglionares provenientes del nervio vago derecho. Las fibras, que son principalmente amielínicas son vasomotoras (simpáticas) y parenquimatosas (simpáticas y parasimpáticas) en cuanto a su distribución. Entre los islotes surgen finas ramas provenientes de los plexos periinsulares. Las fibras presentan con frecuencia conexiones sinápticas con la células acinares antes de inervar los islotes, sugiriendo una estrecha relación entre el control neural de los componentes exocrino y endocrino del páncreas. Muchas fibras penetran en los islotes en compañía de las arteriolas.

Los ganglios parasimpáticos yacen en el tejido conjuntivo inter e intralobular y en este último se asocian con frecuencia células de los islotes,

con las que constituyen los complejos neuroinsulares (Williams and Warwick 1985).

Entonces la inervación del páncreas procede del nervio vago y de los nervios esplácnicos. El primero conduce los impulsos que controlan la secreción exocrina, mientras que los esplácnicos conducen el dolor (Dobelbower & Bronn 1990).

#### **2.6.4 Sistema Linfático.**

Los capilares linfáticos comienzan en torno a los ácinos y los vasos linfáticos siguen el curso de los sanguíneos; no existen vasos linfáticos en los islotes celulares interalveolares. La mayoría de los vasos desembocan en los nódulos pancreatosplénicos, pero algunos lo hacen en otros nódulos situados a lo largo de los vasos pancreatoduodenales y en los pertenecientes al grupo mesentérico superior de nódulos preaórticos.

Los nódulos linfáticos preaórticos se sitúan inmediatamente por delante de la cara anterior de la aorta abdominal. Reciben linfa de los nódulos intermedios de salida asociados con la región subdiafragmática del tubo digestivo, el páncreas, el hígado y el bazo. Sus vasos eferentes forman los troncos intestinales que penetran en la cisterna del quilo. Se dividen en los grupos celiaco, mesentérico superior y mesentérico inferior, que mantienen una estrecha relación con los orígenes de las arterias homónimas.

Los nódulos linfáticos pancreatosplénicos acompañan a la arteria esplénica y están en relación con la superficie posterior y el borde superior del páncreas; uno o dos de ellos se sitúan en el ligamento gastroesplénico. Sus vasos aferentes proceden del estómago, bazo y páncreas, mientras que los eferentes se dirigen al grupo celiaco (Williams and Warwick 1985).

El nódulo linfático celíaco se sitúa alrededor del tronco celíaco, constituyendo la segunda estación de filtración para el estómago, duodeno, hígado, vesícula biliar, páncreas y bazo. Sus ramas eferentes constituyen en parte el tronco intestinal y otras se dirigen directamente a la cisterna del quilo.

Nódulos linfáticos pancreaticoduodenales. Son pequeños nódulos linfáticos situados entre la cabeza del páncreas y el duodeno, drenan el duodeno y el páncreas.

## **2.7 ANATOMÍA SECCIONAL DEL PÁNCREAS TC Y RM**

La utilización de la imagen digitalizada como método de estudio y exploración clínica se ha convertido en uno de los procedimientos básicos e imprescindibles para la valoración de lesiones orgánicas y funcionales que afectan tanto a la especie humana como a los animales domésticos. La razón fundamental del empleo de estas técnicas de diagnóstico por imagen estriba en la dificultad de explorar regiones anatómicas de difícil acceso y complejidad con técnicas convencionales. La exploración clínica mediante el diagnóstico por imagen está basada en la aplicación de diferentes principios físicos que nos

permiten visualizar la estructura corporal y la diferenciación tisular del organismo vivo. El conocimiento de estos principios físicos, al menos a nivel básico, constituye un requisito fundamental para poder interpretar correctamente las imágenes tomográficas obtenidas con finalidad diagnóstica.

Las herramientas en imagenología nos muestran la anatomía en cortes seccionales por medio de ultrasonido, RM y TC que sólo pueden ser interpretadas con un conocimiento preciso de la anatomía (Hofer, 2005). La ecografía, la RM y la TC son técnicas de diagnóstico por imagen seguras para el operador, el paciente y el personal cercano (Preston et al, 2001), y lo más importante, es que posibilita un procedimiento no invasivo y bien tolerado por animales no sedados, lo que permite realizar estudios seriados al objeto de evaluar la progresión de enfermedades, y las respuestas a un determinado tratamiento (Nyland et al. 2002, Barnet et al. 2006).

### **2.7.1 Tomografía Computarizada (TC).**

La TC es una técnica de imagen ampliamente extendida en el estudio de la patología pancreática. La aparición de la TC helicoidal permite obtener mayor resolución con menor dosis de radiación emitida. En la pancreatitis aguda pueden diagnosticarse perfectamente sus complicaciones, como son la necrosis y la extensión del proceso inflamatorio a órganos vecinos. Asimismo, permite una correcta evaluación del tamaño y relaciones de vecindad de los pseudoquistes. En el cáncer de páncreas o en otros tumores del retroperitoneo,

puede determinarse la presencia de metástasis a distancia y extensión a órganos vecinos (Romero 2000).

Una de las ventajas de la TC es que permite adquirir la imagen del conjunto del volumen del órgano. Los datos crudos almacenados en la matriz, pueden emplearse para reconstruir imágenes en todos los planos deseados (reconstrucciones multiplanares). La rapidez de estos tomógrafos permite examinar el páncreas en dos o tres fases, así como reconstruir imágenes angiotomográficas de las arterias, venas y de los conductos pancreáticos tanto en 2D como en 3D. Se obtiene así la imagen detallada de todo el páncreas, enriqueciendo notablemente la información, la exactitud y la rapidez de la exploración, lo que permite tomar decisiones terapéuticas rápidas (Stoopen 2007). Angio-TC es un método rápido y fiable en la determinación de la anatomía arterial, haciendo el tratamiento quirúrgico de pacientes con enfermedades hepáticas y de páncreas más seguro (Egorov et al. 2009). Sin embargo, la TC presenta una serie de inconvenientes, así como importantes limitaciones en relación a su certeza diagnóstica, ésta es muy baja en el diagnóstico etiológico de la pancreatitis, así como de la colestasis e ictericia, si están causadas por cálculos o tumores de la papila, y también en tumores pancreáticos de pequeño tamaño (Romero 2000).

En la revisión bibliográfica realizada no hemos encontrado referencias sobre estudios con TC en páncreas porcino.

### 2.7.2 Resonancia Magnética (RM)

La RM aún poco utilizada en el páncreas, se revela hoy como una técnica que puede llegar a ser competitiva con la TC. El mayor interés radica en la diferenciación del cáncer y procesos inflamatorios. La RM incursiona cada día más en estudios funcionales, posicionándose también como una herramienta de imagen molecular predominante en los próximos años. Su mayor resolución tisular permite obtener la imagen colangiográfica de los conductos pancreáticos. La desventaja, comparada con la TC, es que se trata de un procedimiento más lento y con menor capacidad para el examen anatómico del conjunto de órganos (Stoopan M.E., 2007).

El páncreas ha sido objeto de un detallado análisis morfológico por parte de Muller-Miny et al en 1996, estos autores comparan su imagen con cinco secuencias de pulso diferentes obtenidas mediante una intensidad de un campo magnético de 0,5 T, concluyendo que las secuencias estándar spin-eco potenciadas en T1, con y sin contraste, proporcionan la información más idónea sobre la anatomía de este órgano.

Outwater and Mitchell (1996) consideran que la RM es la técnica más adecuada para la evaluación del páncreas. Por su parte, Agostini (2005) describe distintos aspectos anatómicos y alteraciones patológicas del páncreas.

En la revisión bibliográfica realizada no hemos encontrado referencias sobre estudios con RM del páncreas porcino.



## **2.8 ANATOMÍA ENDOVASCULAR DEL PÁNCREAS.**

La angiografía constituye uno de los métodos radiológicos de indudable valor en el diagnóstico de las lesiones arteriales y parenquimatosas de los órganos que ocupan la cavidad abdominal. Aparte de las valiosas informaciones que suministran las exploraciones convencionales, la arteriografía tiene la ventaja de precisar muchas lesiones por pequeñas que sean, y que podrían pasar desapercibidas con otros métodos, abriendo así una nueva dimensión diagnóstica. La introducción de la arteriografía selectiva supone un mayor grado de exactitud en la aplicación de esta técnica.

Son varias las vías para acceder a la aorta abdominal, siendo ellas las que determinan las diferentes modalidades conocidas de angiografía.

- Translumbar
- Venosa
- Braquial-cutánea izquierda
- Transfemoral (Pisani et al. 1970).

Las ventajas de la arteriografía transfemoral radican en su benignidad, fácil realización, precisión para colocar el catéter a nivel del órgano que se quiere explorar, seguridad para la inyección del contraste, posibilidad de realizar arteriografías selectivas o supraselectivas, inyecciones repetidas cuantas veces lo requiera el caso, y, por último, no necesita anestesia general (Seldinger 1953, Odman 1958, Pisani et al. 1970).

El proceso se basa en la administración por vía intravascular, de un contraste radiopaco. Los rayos X no pueden atravesar el compuesto por lo que se revela en la placa radiográfica la morfología del árbol arterial, así como sus distintos accidentes vasculares: émbolos, trombosis, aneurismas, estenosis, etc. Al tener la sangre una densidad similar a la de los tejidos circundantes, se requiere añadir un contraste radiopaco (que absorbe la radiación X) para que sea visible en la radiografía. Mediante el catéter se administra el contraste en el área que queremos visualizar. Para ello, se introduce por la arteria femoral y se avanza cuidadosamente por el sistema arterial. Las imágenes obtenidas del tránsito del contraste y su distribución junto a la sangre nos permiten visualizar las arterias.

Antes de la aparición de técnicas no invasivas de imágenes diagnósticas, la radiografía convencional y la arteriografía eran principalmente los elementos usados. Los recientes avances en las técnicas de TC, RM, han potenciado el empleo de métodos no invasivos en el diagnóstico preciso de pacientes. Sin embargo, la arteriografía todavía tiene sus indicaciones específicas. Las mejoras tecnológicas en equipos angiográficos y en la embolización han hecho posible una magnífica caracterización vascular, de tal forma que la embolización se ha convertido en práctica corriente.

## **2.9 VÍAS DE ABORDAJE EN EL EMPLEO DE NUEVAS TERAPIAS**

Hoy día, existe la posibilidad de que personas con diabetes tipo 1 se sometan a un trasplante de células pancreáticas. Concretamente reciben una agrupación de células denominadas islotes de Langerhans, que permiten

regular los niveles de insulina en su organismo. Lamentablemente, en muchas ocasiones, el trasplante se rechaza al poco tiempo sin que se conozca el porqué. Según los expertos, parte del problema reside en que una vez introducidas en el organismo, es imposible seguir la pista de estas células o saber si el sistema inmune del paciente las ha destruido. Precisamente para superar esta dificultad, se ha diseñado una nueva técnica que consiste en rodear las agrupaciones de células de un material que impide que el cuerpo las reconozca como un cuerpo extraño y las ataque, pero permite que puedan seguir segregando insulina. A este material le añadieron una sustancia magnética que contiene hierro, visible a través de una resonancia magnética. Los científicos probaron la técnica en ratones diabéticos y en cerdos y, en ambos casos, las capsulas se mostraron efectivas pues se pudo controlar su evolución desde el exterior y no fueron eliminadas por el sistema inmune que, en el organismo de un diabético, ataca a las células productoras de insulina. La importancia de estos hallazgos es que ahora se pueden utilizar técnicas de imagen convencionales para seguir la evolución de células transplantadas, como los islotes pancreáticos (Arepally et al. 2007, Barnett et al.2007, Arepally et al. 2008).

El trasplante de islotes es una de las alternativas más atractivas para el tratamiento y curación de la diabetes mellitus en un futuro, que desde hace años parece próximo, pero que hasta el momento no ha podido concretarse. Frente al trasplante de páncreas, el de islotes ofrece ventajas comprobadas, tales como la mínima morbilidad del procedimiento, su realización en régimen ambulatorio y la facilidad para llevar a cabo repetidos trasplantes. Como

objetivo de más largo alcance, el trasplante de islotes pretende soslayar la necesidad de un tratamiento inmunosupresor. Al evitarse el riesgo asociado al tratamiento inmunosupresor, sería clínica y éticamente aceptable llevar a cabo el trasplante en fases iniciales de la enfermedad, a fin de restaurar la normoglucemia desde el diagnóstico de la diabetes mucho antes de la aparición de las complicaciones.

Sin embargo, desde que en 1972 se consiguió curar la diabetes en animales de experimentación mediante el trasplante de islotes (Ballinger and Lacy 1972), las frustraciones acumuladas por investigadores, médicos y pacientes al intentar extrapolar estos resultados a pacientes con diabetes han sido innumerables, generando a menudo desánimo y escepticismo respecto a las posibilidades reales de este trasplante como tratamiento de la diabetes. Los trasplantes realizados en los años setenta y ochenta fracasaron de forma sistemática, y no fue hasta 1990 cuando diversos grupos lograron por primera vez que pacientes con diabetes tipo 1 pudieran suspender el tratamiento con insulina y mantener la normoglucemia tras un trasplante de islotes (Sharp et al. 1990). El entusiasmo inicial que estos resultados generaron se vio pronto atemperado al comprobar la pronta reaparición de la hiperglucemia en los escasos trasplantes con éxito. De los pacientes trasplantados en la década de los noventa, tan sólo el 12% alcanzaron en algún momento la independencia a la insulina, y únicamente el 8% la mantuvieron durante más de un año (Bretzel et al. 1999).

Como se ha señalado recientemente, los motivos del lento progreso del trasplante de islotes incluyen limitaciones de carácter científico y técnico (Weir and Bonner-weir 1997). Entre estas dificultades cabe destacar el propio proceso de aislamiento de los islotes, la limitada disponibilidad de órganos y la pérdida de islotes tras el trasplante, ya sea por el fracaso primario del trasplante, por rechazo o por recurrencia del proceso autoinmune. Respecto al proceso de aislamiento, los primeros métodos eran, sobre todo, mecánicos y no permitían obtener un número mínimamente adecuado de islotes a partir de un único páncreas. La descripción por Ricordi et al. en 1988, de un método semiautomático de aislamiento supuso un gran avance, y su aceptación generalizada dio lugar a los primeros trasplantes con éxito al inicio de la década de los noventa. Posteriormente, se han sustituido elementos que han determinado mayor rendimiento y una mejor preservación de los islotes (Linetsky et al. 1997). Asimismo, el proceso de aislamiento, al no estar automatizado, mantiene aún un significativo componente artesanal, presentando una importante variabilidad en resultados, tanto en el número como en la pureza y calidad de los islotes, y no estando exento de toxicidad sobre las células beta.

El trasplante de islotes debe competir en seguridad con el tratamiento con insulina, y la relación beneficio-riesgo del binomio trasplante-inmunosupresión debe demostrar su superioridad a la de mantener el tratamiento con insulina.

El xenotrasplante permitiría recurrir a otras especies para incrementar el número de islotes disponibles de forma prácticamente ilimitada. El cerdo es el

potencial donante que ha suscitado mayor interés no sólo en el caso del trasplante de islotes. Cabe recordar que la insulina porcina ha sido usada durante años sin problemas en el tratamiento de la diabetes. El xenotrasplante se enfrenta al reto de superar el problema del rechazo y al riesgo de la transmisión de zoonosis de la especie donante a la especie humana. La generación de animales transgénicos, diseñados para ser fuente de órganos para trasplante en humanos, podría permitir la disposición ilimitada de islotes y, al mismo tiempo, resolver o paliar el problema del rechazo (Cozzi and White 1995). Alternativamente, los sistemas de encapsulación de islotes podrían tener su principal aplicación en el xenotrasplante. El riesgo de la transmisión de zoonosis ha llevado a la aplicación de moratorias para el xenotrasplante en algunos países. Este riesgo podría verse incrementado por el uso de tratamientos inmunosupresores que podrían facilitar la infección o, en caso de proteger a los islotes mediante encapsulación, por la dificultad de acceder a la fuente de la zoonosis. La reciente demostración de que islotes de cerdo producían retrovirus porcinos endógenos (PERV) capaces de infectar células humanas en cultivo, así como la detección tras el trasplante de estos islotes de la expresión del virus e infección de diversos tejidos del receptor inmunodeprimido, han añadido una nota más de preocupación (Van der Laan et al. 2000).

Vías alternativas para superar el déficit de islotes son la generación de células productoras de insulina mediante la estimulación de la replicación de los islotes, la creación de líneas celulares o la inducción de diferenciación a partir de células madre, campos éstos en los se han producido avances muy

significativos en los últimos años. Aunque la capacidad de crecimiento de los islotes adultos es limitada, ha sido posible inducir su proliferación *in vitro* (Beattie et al. 1999). Sin embargo, el incremento de la proliferación se ha visto hasta el momento inevitablemente acompañado de la diferenciación de las células beta humanas que pierden la capacidad de producir insulina. El ducto pancreático se considera la fuente de células precursoras de los islotes y, recientemente, se ha conseguido demostrar que es posible expandir *in vitro* tejido del ducto pancreático humano para a continuación dirigir su diferenciación hacia islotes pancreáticos (Bonner-Weir et al. 2000). Las posibilidades que ofrecen las técnicas de bioingeniería para la generación de células productoras de insulina son múltiples, ya sea para inducir la diferenciación de islotes a partir de células madre, estimular la replicación de las células beta o crear líneas celulares productoras de insulina a partir de células beta o de células no endocrinas. Diferentes revisiones han analizado estas posibilidades de forma exhaustiva (Efrat 1998, Soria et al. 2000).

### 3 MATERIAL Y MÉTODOS

Para la fase experimental de este trabajo se emplearon 55 cerdos de raza Large White, con un peso medio de 30kg, procedentes de la granja veterinaria de la Universidad de Murcia y del Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón (CCMIJU).

El **protocolo anestésico** fue el mismo para todos aquellos animales vivos que se utilizaron en el estudio. Tras 24 horas de ayuno, cada cerdo fue premedicado con 0.1 mg de diazepam por kilogramo de peso vivo, 10 mg/kg de ketamina y 0.01 mg/kg de atropina intramuscular. La anestesia general fue inducida con 2 mg/kg de propofol administrado vía intravenosa. Después de intubar endotraquealmente al animal, se conectó a un aparato de anestesia (Ohmeda Excel 210 SE; Boc Group, Madison, Wis) y a ventilación mecánica (Ohmeda 7800; Boc Group). La anestesia se mantuvo con 2%-2.5% de halothane. Los animales se inmovilizaron en posición de decúbito supino en la mesa de operaciones y se les administró vía intramuscular 0.15 mL de amoxicilina trihidrato plus potasio clavulanato (Synulox; Pfizer, New York, NY) por kilogramo de peso vivo.

A continuación se describen las técnicas aplicadas para cada una de las actividades planteadas en los tres objetivos específicos:



### **3.1 ESTUDIO PARA DEFINIR LA ANATOMÍA TOPOGRÁFICA Y LA HISTOLOGÍA DEL PÁNCREAS PORCINO.**

#### **3.1.1 Estudio *in vitro* mediante disecciones regladas transperitoneales.**

Para la realización del presente estudio se han empleado 10 cadáveres.

#### **Protocolo para la disección:**

- Abordaje por laparotomía en línea blanca
- Delimitación de la raíz del mesenterio
- Identificación del duodeno y mesoduodeno. Relación del lóbulo derecho del páncreas con el duodeno
- Localización del último giro centrífugo del colon ascendente en el lado derecho, cubierto por el duodeno. Comprobar si la topografía es retroperitoneal. Sección del colon en esa zona.
- Identificación del duodeno ascendente; su topografía y relación con el páncreas
- Localización de giro duodeno-yeyunal, craneal a la raíz del mesenterio, en el lado izquierdo y cortar.
- Sección de la raíz del mesenterio.
- Relación del cuerpo del páncreas con el colon ascendente, transversal, y con la flexura duodenoyeyunal.
  
- Retirar el tracto gastrointestinal en bloque.
- Disección del páncreas e identificación de su relación con otros órganos próximos.

**3.1.2** Estudio *in vivo*, mediante técnicas de diagnóstico por imagen (TC y RM).

Se utilizaron 10 animales vivos procedentes del animalario del Centro de Cirugía de Mínima Invasión de Cáceres.

El protocolo utilizado fue el siguiente:

- Anestesia general, siguiendo la pauta anteriormente mencionada.
- Posición decúbito supino
- Exploración escáner Philips:
  - Parámetros
    - Grosor de corte
    - Intercorte
    - Matriz
    - Tiempo
    - Número de cortes
    - Espaciado entre cortes
- Obtención de la imagen DICOM
- Manipulación de la imagen DICOM con software de imagen para analizar el páncreas.

### **3.1.3** Estudio *in vitro* mediante técnicas de anatomía seccional.

#### **3.1.3.1** Técnica de obtención y conservación de cortes transparentes.

En cinco de los animales del apartado anterior se realizaron criosecciones. Los cadáveres se congelaron a  $-30^{\circ}\text{C}$  durante 48/72 horas, para después seccionarlos con sierra de cinta entre la décima vértebra torácica y la cuarta vértebra lumbar. Los bloques así obtenidos se congelaron a  $-70^{\circ}\text{C}$  durante 72 horas más. Transcurrido este tiempo, se cortaron transversalmente en secciones de 3 mm de grosor mediante una sierra de cinta, cuyo tope fue previamente enfriado con nitrógeno líquido y reenfriado al realizar cada corte, evitando así la descongelación de la pieza anatómica. Las criosecciones obtenidas se introdujeron de forma inmediata en una bañero de acetona al 90% enfriada a una  $-30^{\circ}\text{C}$ , para también evitar su descongelación. Los restos de tejido adheridos a la superficie de las secciones se limpiaron utilizando un bisturí del número 15, tras lo cual se realizaron fotografías de cada sección por ambas caras.

##### **3.1.3.1.1** Técnica de P-40.

Con el fin de conservar las criosecciones anatómicas se empleó la técnica de plastinación P-40. Para deshidratarlas se mantuvieron en acetona al 90% a  $-30^{\circ}\text{C}$ . Semanalmente se midió la pureza de la acetona utilizando un acetómetro. Los cortes se cambiaron a acetona pura a  $-30^{\circ}\text{C}$  hasta que se observó que esta no descendió del 99%. Una vez deshidratadas las secciones,

se inició la impregnación de las mismas con Biodur® P-40 en cámara de vacío durante 48 horas. La sustitución de acetona por poliéster se forzó mediante presión de vacío controlada por un circuito con válvulas y vacuómetros, poniendo especial atención en alcanzar de forma gradual una presión final de 10 mm de Hg. Las secciones se mantuvieron en P-40 a temperatura de refrigeración hasta el momento de proceder a su polimerización. Para ello, los cortes impregnados se introdujeron en cámaras de cristal llenas de Biodur® P-40 y se sellaron. Posteriormente, se colocaron de forma horizontal en una cámara de luz ultravioleta enfriada por ventiladores durante 24 horas para su polimerización. Transcurrido este tiempo los cortes plastinados se fotografiaron en lupa a 0.5X, 2X , 3X, 6X.

#### **3.1.3.1.2 Técnica E12.**

Los pasos de la técnica E12 consisten en deshidratación, impregnación y polimerización, de forma similar a lo ya descrito en la técnica P-40. Para proceder a la deshidratación también se empleó el mismo protocolo que para la técnica de P-40. Los cortes deshidratados se sumergieron en una mezcla de 100 partes de epoxi Biodur® E12 y 28 partes de endurecedor Biodur® E1. La impregnación se realizó en cámara de vacío hasta alcanzar de forma progresiva una presión final de 5 mm de Hg en un periodo de tiempo de 20-24 horas, tras el inicio de la impregnación. A continuación, los cortes se prepararon de forma inmediata para su polimerización. Cada corte impregnado fue cubierto con solución de impregnación y colocado entre dos hojas de acetato. La polimerización se realizó en estufa a 50°C durante 24 horas.

Seguidamente, los cortes fueron separados de los acetatos, fotografiados y escaneados para su estudio.

#### **3.1.4. Estudio histológico del páncreas porcino.**

Para este estudio se emplearon 19 páncreas obtenidos tras su disección, dentro de la primera hora tras el sacrificio de los animales. Para la fijación de los órganos se utilizó formol al 10%, siendo divididos en tres partes coincidentes con los dos lóbulos y el cuerpo. Transcurridos de 30 a 60 días de fijación, se procesaron 20 muestras de  $1\text{cm}^3$  distribuidas en las 3 porciones del páncreas. Las muestras se incluyeron en parafina y se realizaron cortes de 5 micras mediante el microtomo. Los cortes histológicos se les aplicaron la tinción de Hematoxilina/Eosina y se procedió al estudio de los islotes pancreáticos.

De cada muestra se estudiaron, de forma aleatoria, tres campos cuya área correspondía a una pantalla completa a 10X, lo que representó un total aproximado de 60 campos por páncreas y más de 1000 campos en los 19 páncreas del estudio. Se contabilizó el número total de islotes pancreáticos por campo. El número de islotes por  $\text{mm}^2$  en cada porción de páncreas se calculó dividiendo el número de islotes identificados en los campos de dicha porción por el área total controlada. Asimismo se calculó la proporción de tejido endocrino para cada una de las tres porciones del páncreas.

El estudio morfométrico de los islotes se realizó con un microscopio óptico (AXIOSKOP 40, ZEISS) conectado a una cámara con monitor en color y a un analizador de imagen (Spot Advanced). El área de cada islote pancreático fue calculada empleando el programa de *Sigma Scan Pro 5* (SPPS, Inc®). Un total de más de 4000 islotes fueron controlados en los 19 páncreas estudiados.

### **3.2 ESTUDIO PARA DEFINIR LA ANATOMÍA VASCULAR DEL PÁNCREAS PORCINO.**

#### **3.2.1. Estudio in vitro mediante técnica de inyección vascular.**

Se emplearon 8 cadáveres, Tras una laparotomía por línea alba, se identificaron la aorta abdominal y la vena cava caudal, que se disecaron y se canalizaron con tubos de silicona, fijándolos con hilo de seda a unos centímetros caudal a las arterias renales. Se realizó un abordaje por cavidad torácica, se identificó la aorta torácica y la vena cava caudal (porción torácica), que también se disecaron y se canalizaron con tubos de látex, fijándose asimismo con hilo de seda.

Se empleó la resina epoxy Araldit® CY 223 Uneco® y el endurecedor Aradur® HY 2967 Uneco®, Tras calentarlos a baño maría, hasta alcanzar 37°C, se mezclaron ambos compuestos en una proporción de 3:1 y se tiñó la mezcla utilizando colorante rojo y/o azul. Para su inyección se emplearon bombas peristálticas. El volumen total del epoxy inyectado en los 8 cadáveres completos de cerdos se describe en la siguiente tabla:

No. de cerdos	Epoxy vía arterial	Epoxy vía venosa
3	300cc	300cc
2	100cc	100cc
2	100cc	
1	50cc	

Tras la inyección, las piezas anatómicas se dejaron reposar durante doce horas y posteriormente se refrigeraron a 3°C durante 24/48 horas.

Los animales inyectados se sumergieron en solución saturada de sosa cáustica (NaHO), renovándose el baño de sosa semanalmente durante un periodo comprendido entre un mes y seis meses, dependiendo de la pieza, hasta conseguir la corrosión completa de los tejidos blandos. Posteriormente, las preparaciones se lavaron con agua corriente para retirar los restos de sosa y grasa adheridos a esta, teniendo cuidado de no romper el molde vascular sanguíneo infiltrado con el material epoxy. Durante este proceso las piezas fueron fotografiadas y analizados mediante lupa estereoscópica con el fin de cuantificar los diámetros de los vasos pancreáticos.

### **3.2.2** Estudio *in vivo* mediante técnicas endovasculares de radiología intervencionista en los vasos pancreáticos.

Se utilizaron 20 cerdos vivos procedentes del animalario del Centro de Cirugía de Mínima Invasión de Cáceres para el estudio de angiografías. Cada animal fue sometido al protocolo de anestesia ya indicado. Una vez

anestesiado se realizó un estudio de la anatomía vascular mediante angioTC (Philips Brilliance CT-6) y reconstrucción 3D. A continuación, se afeitó y esterilizó la región inguinal y abdominal en el quirófano. Para lograr una distribución sistémica de heparina se aplicó una inyección intravenosa de 150 IU/ (Heparina ROVI 0.5%, ROVI SA, Madrid, Spain) por kilogramo de peso vivo.

Técnica de angiografía selectiva:

Fue realizada en el Centro de Cirugía de Mínima Invasión de Cáceres por el Dr. Fei Sun, responsable del equipo de Radiología Intervencionista. Para la obtención de las angiografías se empleó la técnica de Seldinger como abordaje a la arteria femoral. Tras una pequeña incisión en la piel se punciona dicha arteria, utilizando una aguja de unos 18 G de diámetro externo. La aguja se desplaza hasta lograr que avance por el interior de la arteria en un ángulo de 45°. En este momento se introduce una guía de punta flexible en el interior del vaso, se retira la aguja y se avanza con un dilatador 5-F (Check-flo; William Cook Europe, Bjaeverskov, Denmark) sobre la guía, tras lo cual se retira la guía y se comprueba la existencia de flujo de retorno. El equipo empleado para obtener las angiografías fue un medio arco de fluoroscopia de alta resolución con grabación digital y sustracción digital de imagen (C-arm Digital Subtraction Angiography Philips BV 300). Bajo control fluoroscópico se introdujo por arteria femoral una guía hidrofílica 0.035-inch (Radifocus guidewire, Terumo, Tokyo, Japan) y un cateter 5-F Cobra (Radiofocus Cobra Small; Terumo, Tokyo, Japan) hasta alcanzar la aorta. Tras realizar una angiografía general de la aorta, se procedió con una angiografía selectiva de la arteria celiaca en



posición anteroposterior empleando 15 ml de urografin (Urografin, 76%, Schering Inc., Germany). La arteriografía de la celíaca permitió identificar con claridad sus dos ramas, las arterias esplénica y hepática. Empleando la opción road-map como guía, el catéter Cobra se colocó más profundo en la rama pancreática de la arteria esplénica. Una angiografía superselectiva de esta arteria se obtuvo con la inyección manual de 3-5 ml de medio de contraste y asegurándose que el extremo del catéter estaba colocado en el lugar correcto. En uno de los animales se realizó además una angiografía supraselectiva de la arteria pancreaticoduodenal creaneal, tras previa arteriografía selectiva de la gastroduodenal. Finalmente se procedió a retirar el catéter así como el introductor. El lugar de la punción en la arteria femoral se mantuvo comprimido hasta que se logró hemostasis y los animales se recuperaron de la anestesia.

Las imágenes obtenidas mediante angiografía fueron grabadas y utilizadas para cuantificar el diámetro y la longitud de la arteria pancreática.

### **3.3 ESTUDIO PARA EVALUAR LAS VÍAS DE ABORDAJE ENDOVASCULAR AL PÁNCREAS PORCINO.**

#### **3.3.1 Estudio in vivo mediante técnicas de marcaje nuclear.**

Se emplearon cinco animales procedentes del animalario del Centro de Cirugía de Mínima Invasión de Cáceres. Tras la anestesia, los animales fueron sometidos al protocolo ya descrito en el apartado 3.2.2. Tras localizar la arteria esplénica, se procedió a la angiografía supraselectiva de la rama pancreática, dirigida hacia el lóbulo izquierdo del páncreas.

Inyección de marcadores nucleares:

Tras comprobar que la punta del catéter estaba situada en el lumen de la rama pancreática se procedió a avanzarol escasos milímetros hasta asegurar su contacto con la pared de la arteria. De esta forma, se evitó el flujo de sangre a través de la arteria. Con la finalidad de evaluar la eficacia de este abordaje endovascular al páncreas, se procedió a la inyección de un marcador específico de ADN. Para ello, se emplearon 2 ml de 0.5% Bisbenzimidide H33258 Fluorochrome Trihydrochloride (Calbiochem, Merck KGaA, Germany) (Hoechst) diluido en phosphate buffered saline (PBS), que fueron inyectados a través del catéter lentamente bajo control fluoroscópico. Tras depositar el Hoechst, el catéter se mantuvo 10 minutos ocupando el total de la luz arterial, evitando el flujo sanguíneo hacia el parénquima pancreático y así favorecer el contacto del Hoechst con el parénquima pancreático. Finalmente, se procedió a retirar el catéter así como el introductor. El lugar de la punción en la arteria femoral se mantuvo comprimido hasta que se logró la hemostasis.

Toma de muestras del páncreas inyectado:

En un periodo no superior a los 60 minutos tras la inyección del Hoechst, se procedió al sacrificio de los animales mediante sobredosis de pentobarbital, y a la obtención de entre 20 y 25 muestras del páncreas, pertenecientes tanto al cuerpo como a los lóbulos derecho e izquierdo. Las muestras, de  $1\text{cm}^3$ , se cubrieron con embedding compound (Tissue Freezing medium, Leica Instruments, GmbH Nussloch, Germany) y, empleando criotubos para su manipulación, se congelaron con nitrógeno líquido y se conservaron a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta el momento del corte en criostato. Un mínimo de 10 secciones ( $8\mu\text{m}$ ) de

cada muestra se obtuvieron a  $-25^{\circ}\text{C}$  empleando un criostato (Reicher Jung Criocut). Las secciones se observaron y fotografiaron en microscopio de fluorescencia (excitación 365nm, emisión 450nm) para cuantificar la fluorescencia de los núcleos de las células pancreáticas marcadas con Hoechst. Una tinción clásica de hematoxilina-eosina, se realizó en todas las muestras con la finalidad de identificar las poblaciones celulares afectadas por los marcadores nucleares.

### **3.3.2. Estudio *in vivo* mediante técnicas de transfusión de adenovirus GFP.**

Para este estudio se emplearon unidades infecciosas de adenovirus portadores del promotor citomegalovirus/ gen GFP (Ad-CMV-GFP) facilitadas por la Unidad de Producción de Vectores del Centro de Biotecnología y Terapia Génica de la Universidad Autónoma de Barcelona.

Se emplearon cinco animales procedentes del animalario del Centro de Cirugía de Mínima Invasión de Cáceres. Tras la anestesia, los animales fueron sometidos al mismo protocolo descrito en el apartado 3.2.2. Tras localizar la arteria esplénica se procedió a la angiografía supraselectiva de la rama pancreática, dirigida hacia el lóbulo izquierdo del páncreas.

### **3.4 ESTUDIO ESTADÍSTICO.**

Todos los datos morfométricos obtenidos fueron analizados e incluidos en una hoja de cálculo (Excel Microsoft ®) y a partir de ellos se analizaron con el paquete estadístico SPSS 17.0. (SPSS Inc, Chicago, Ill ®), expresando las medias con desviación típica (SD). Los estadísticos descriptivos fueron obtenidos y la homogeneidad de variables analizados con la prueba de Kolmogorov-Smirnov, metodología que comprueba si los datos de cada variable concuerdan a una distribución normal.

A continuación se realizó un análisis de varianza donde se comparan el número y el tamaño del islote pancreático, además del % del endocrino.

En las comparaciones entre porciones se ejecuta el test de Turkey y en los casos donde no se cumplía una homogeneidad de varianza entre grupo se realizó el test no paramétrico de Mann-whitney.

## **4 RESULTADOS**

Los resultados se exponen agrupados en tres bloques, acordes con los objetivos específicos planteados.

### **4.1 ANATOMÍA TOPOGRÁFICA E HISTOLOGÍA DEL PÁNCREAS PORCINO.**

#### **4.1.1 Resultados de las disecciones regladas transperitoneales.**

Tras laparotomía por línea alba (Fig. 1A) identificamos diferentes porciones del intestino, el estómago, el bazo y la vejiga de la orina (Fig. 1B). Asimismo, al desplazar el paquete intestinal hacia el flanco izquierdo visualizamos las porciones del duodeno. La porción craneal topografiada hacia el flanco derecho, junto al porta hepático, se continúa como flexura duodenal craneal que termina en el duodeno descendente. Esta última porción presenta un amplio mesoduodeno donde se dispone el lóbulo derecho del páncreas. Dicho lóbulo se incorpora pues en el mesoduodeno, paralelo a la porción descendente del duodeno y dividido en dos partes, frecuentemente (Fig. 1C).

Su parte más craneal contacta con la flexura duodenal craneal, así como con el omento menor y el porta hepático (Fig. 1C). El extremo libre del lóbulo derecho del páncreas se proyecta dorsalmente, junto a la porción más caudal del duodeno descendente. En esta zona el lóbulo derecho del páncreas contacta con la vena cava caudal, los vasos renales derechos, así como con la glándula adrenal derecha, la apófisis caudada del hígado y el colon ascendente (Fig. 1D).

Al tensionar el mesoduodeno, se aprecia como ambas estructuras, duodeno descendente y lóbulo derecho del páncreas, quedan cubiertas por peritoneo, en un plano anatómico al mismo nivel que el referenciado por la vena cava caudal y los vasos renales derechos (Fig. 2 A-C). La tensión aplicada sobre el mesoduodeno incide no solo en el duodeno y páncreas, sino que también determina un desplazamiento de la vena cava caudal, de la glándula adrenal derecha y de los vasos renales derechos hacia la línea media. En una ampliación de esta zona (Fig. 2C), se aprecia cómo la flexura duodenal caudal acompaña al páncreas hacia una posición retroperitoneal. Al desplazar el bloque intestinal hacia la derecha se identifica el lóbulo izquierdo del páncreas, pudiendo observarse cómo su extremo libre contacta con el polo craneal del riñón izquierdo, la extremidad dorsal del bazo y el estómago (Fig. 3A-C). Tensionando el omento mayor, se advierte cómo éste se proyecta desde la curvatura mayor del estómago hasta el colon transversal (Fig. 3C). La tracción hacia la línea media del abdomen ejercida sobre los giros del colon ascendente permite evidenciar la topografía retroperitoneal del colon descendente y de la flexura cólica izquierda. Lateralmente a dicha flexura cólica

destaca el extremo libre del lóbulo izquierdo del páncreas. El cuerpo del páncreas, así como parte de los lóbulos pancreáticos, queda cubierto por la raíz del mesenterio, el trayecto del colon transversal, el mesocolon y el último giro centrípeto del colon ascendente.

Tras disección parcial del peritoneo y del colon ascendente, fue posible incidir las flexuras duodenoyeyunal y cólica derecha para así poder retirar la mayor parte del paquete intestinal junto con la raíz del mesenterio (Fig 4A). En este plano de disección, tras seccionar la raíz del mesenterio, se aprecia cómo la porción más caudal del duodeno descendente y parte del lóbulo derecho del páncreas se proyectan hacia la línea media, quedando junto a la flexura duodenal caudal en posición retroperitoneal. La flexura duodenal caudal prosigue hacia la izquierda para recorrer el borde caudal de la raíz del mesenterio. La Porción ascendente del duodeno y la flexura duodenoyeyunal que la continúan tienen una topografía retroperitoneal. Por su parte, el primer asa yeyunal se incorpora al mesoyeyuno, abandonando así la posición retroperitoneal. Por otro lado, identificamos con claridad el recorrido del colon descendente, la flexura cólica izquierda, el colon transversal y la flexura cólica derecha. En este plano de disección se distingue cómo el colon transversal recibe la fijación del omento mayor en su borde antimesentérico (Fig. 4B). La tensión aplicada sobre el omento mayor pone de manifiesto que parte de su fijación lateral afecta al lóbulo izquierdo del páncreas (Fig. 4C).

Un estudio detallado de la zona izquierda de este plano de disección (Fig. 5A ) aporta datos específicos sobre la topografía del colon descendente,

de la flexura cólica izquierda y del lóbulo izquierdo de páncreas. En efecto, la tensión aplicada sobre la pared del colón descendente (Fig. 5B) permite evidenciar una fascia de coalescencia que se extiende desde la cara ventral del riñón izquierdo hasta el colon descendente, afectando parcialmente al lóbulo izquierdo del páncreas. Esta fascia impide la exposición de los vasos renales izquierdos o de la glándula adrenal izquierda. Por otro lado, la tensión aplicada sobre el lóbulo izquierdo del páncreas para forzar su posición en sentido caudal se transmite al omento mayor (Fig 5C). En esa situación de tensión se aprecia la relación que mantiene el omento mayor con el lóbulo izquierdo del páncreas y con la cara visceral del bazo, mediante el ligamento gastroesplénico.

El análisis detallado de la zona derecha de la disección (Fig. 6A) permite establecer las relaciones topográficas del lóbulo derecho del páncreas con otras estructuras próximas. De esta forma, al tensionar la flexura cólica derecha hacia la línea media (Fig 6B) se aprecia como la parte derecha del omento mayor afecta de manera parcial al páncreas en esta zona. Tras fijarse a lo largo del colon transversal y de la flexura cólica derecha, el omento mayor se extiende lateralmente sobre el lóbulo derecho del páncreas.

La sección del omento mayor, junto a la disección de la fascia de coalescencia con el peritoneo parietal, permite desplazar el colon transversal y el mesocolon en sentido caudal (Fig. 7A). Con esta maniobra se pone de relieve la parte del páncreas que queda cubierta por el colon transversal, en una topografía retroperitoneal. En este plano de disección se observa con claridad la diferencia en coloración de la superficie de páncreas, cubierta por colon



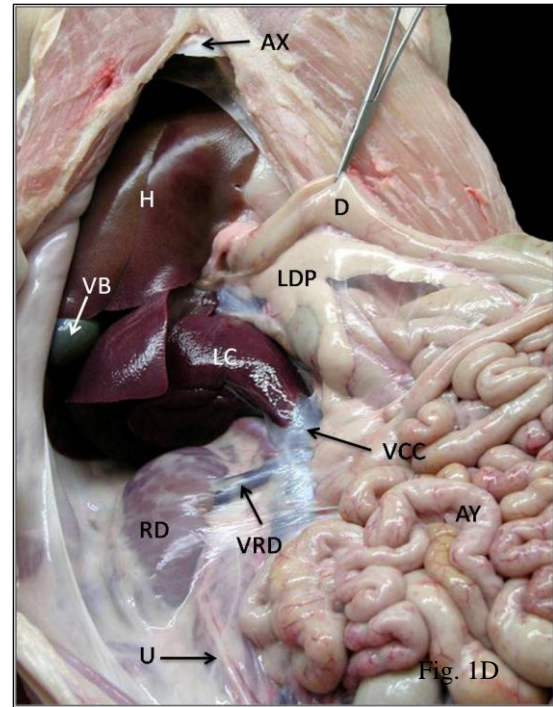
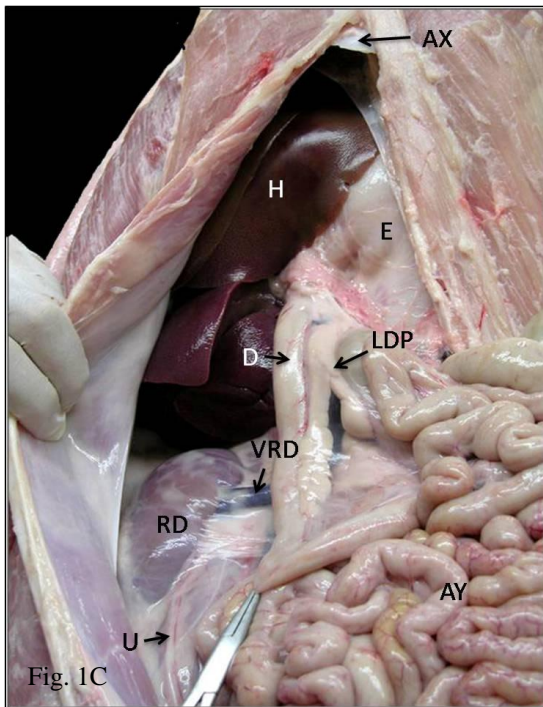
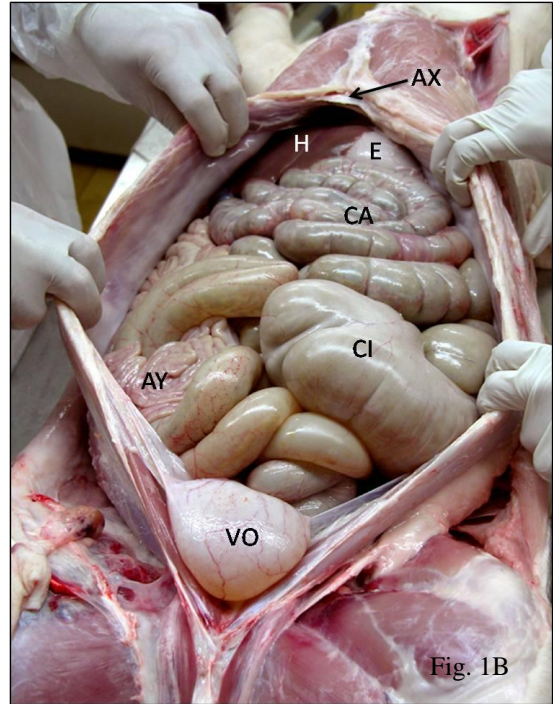
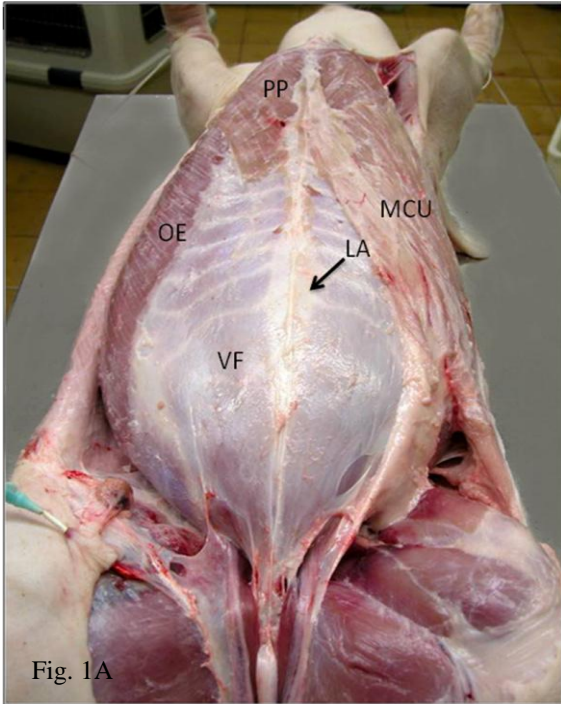
transverso, el mesocolon. Se trata del cuerpo del páncreas, rodeando a la vena porta, así como de buena parte de los lóbulos derecho e izquierdo (Fig. 7B).

Continuando la disección del peritoneo parietal hacia la izquierda, es posible retirar la flexura cólica izquierda y observar con detalle el área por ella cubierta (Fig. 8A). En una visión ampliada de la zona es posible identificar la superficie ventral del parénquima pancreático expuesto, así como la línea de sección del peritoneo (Fig. 8B). En posición caudal al lóbulo izquierdo del páncreas se identifica la topografía de la glándula adrenal izquierda y de los vasos renales, en la zona cubierta por la flexura cólica izquierda. De igual forma, se advierte la relación que mantiene el extremo del lóbulo izquierdo del páncreas con el polo craneal del riñón y con la extremidad dorsal del bazo.

El colon transverso y el mesocolon cubren dorsalmente el cuerpo del páncreas y el trayecto de la vena porta. Por su parte, el colon descendente a partir de la flexura cólica izquierda se topografía entre ambos riñones, presentando una porción parcialmente retroperitoneal.

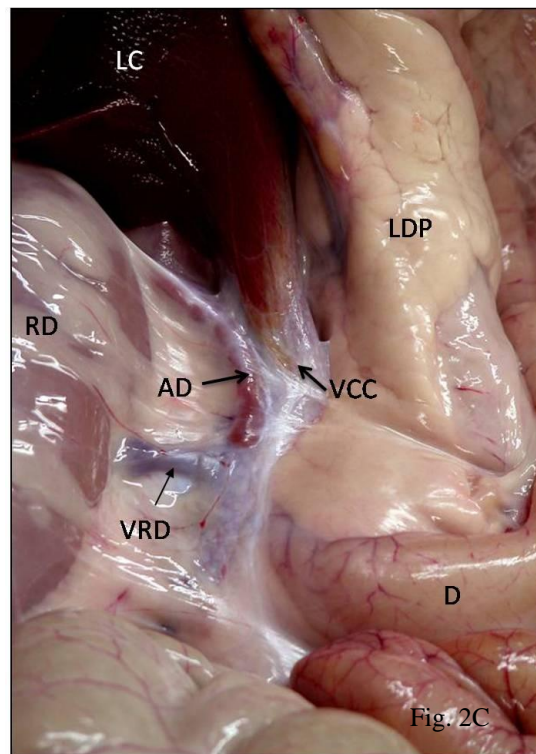
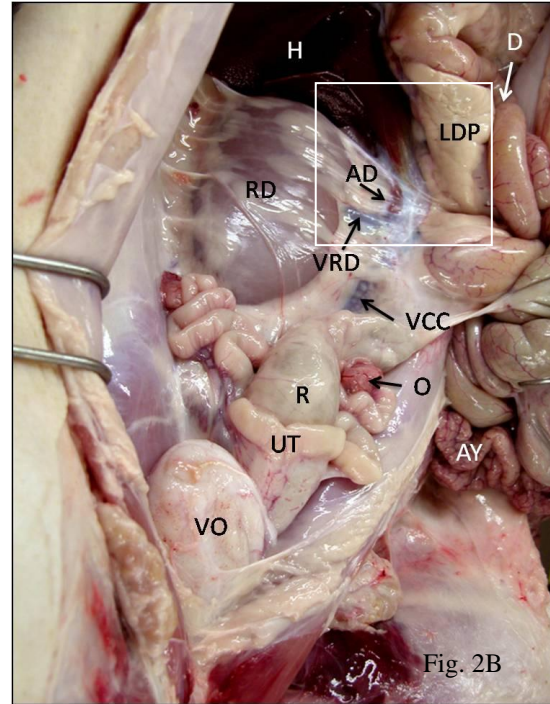
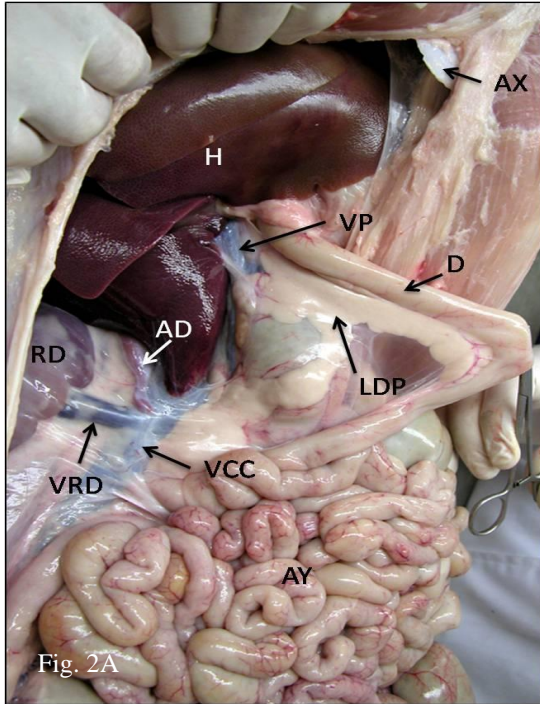
La disección del peritoneo que afecta a la flexura duodenal caudal permite una mejor exposición de la extensión del lóbulo derecho del páncreas (Fig. 9A). La fascia de coalescencia que afecta al lóbulo derecho del páncreas en su porción más caudal, vincula a esta porción del páncreas con la vena cava cauda y parte del lóbulo caudado del hígado, principalmente (Fig. 9B).

Tras liberar la cara dorsal del páncreas y separarlo del resto de órganos retroperitoneales se procedió a su extracción (Fig. 10). Todos los páncreas aislados presentaron una zona central rodeando a la vena porta, que se corresponde con el cuerpo. El lóbulo izquierdo se caracteriza por su tamaño respecto al resto del páncreas, llegando a alcanzar el 70% de su peso total. El lóbulo derecho presenta una morfología alargada en la mayoría de los páncreas (Fig. 10A). Sin embargo en un número elevado de páncreas, este lóbulo se caracteriza por quedar conformado mediante dos proyecciones que derivan del cuerpo. Una de menor tamaño que presenta una topografía en mesoduodeno. La otra porción de mayor tamaño y longitud se extiende hacia retroperitoneo, coincidiendo con los hallazgos observados durante la disección (Fig 10C-D).

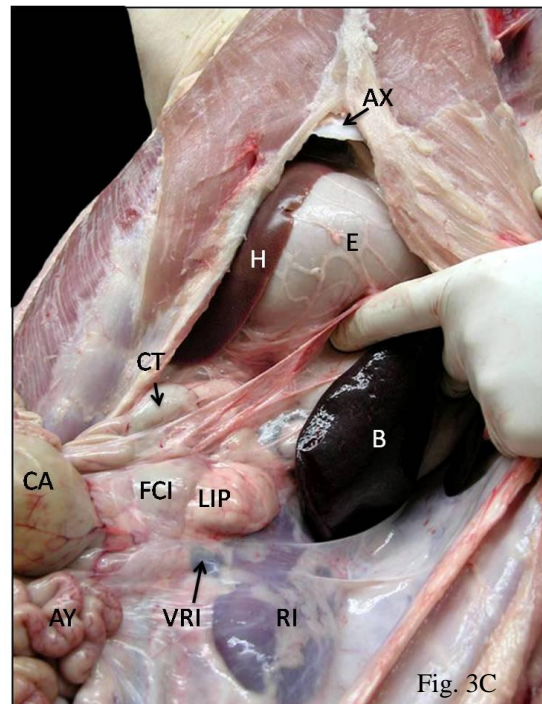
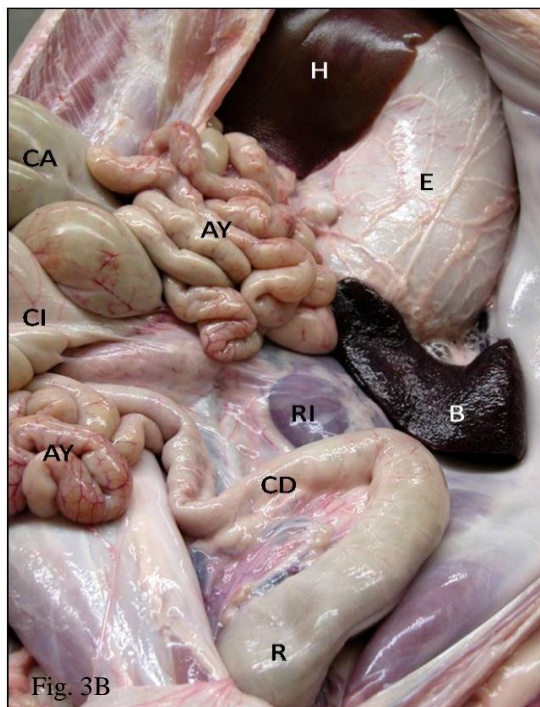
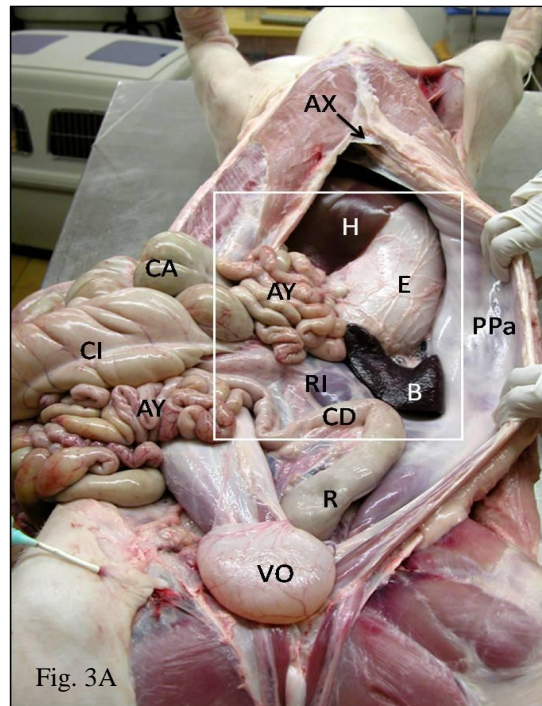


**Figura 1:** Disección reglada de la cavidad abdominal del cerdo. **A:** Identificación de la línea alba en el plano muscular del los del abdomen **B:** Topografía del tracto gastrointestinal tras laparotomía por línea alba **C:** Posición del lóbulo derecho del páncreas en el mesoduodeno **D:** Imagen lateral derecha con el duodeno (porción descendente) reclinado para observar el lóbulo derecho del páncreas.





**Figura 2:** Topografía del lóbulo derecho del páncreas. **A:** La tracción aplicada al duodeno descendente hacia la izquierda permite identificar la extensión del lóbulo derecho del páncreas. **B:** Detalle de estructuras anatómicas que se relacionan por su topografía, con el páncreas (lóbulo derecho). **C:** Detalle del duodeno descendente/flexura duodenal caudal junto al lóbulo derecho del páncreas en su proyección al espacio retroperitoneal.



**Figura 3:** Topografía del lóbulo izquierdo del páncreas. **A:** Tracto gastrintestinal desplazado hacia la derecha para acceder al lado izquierdo del abdomen. **B:** Topografía del colón, riñón izquierdo y asas intestinales. **C:** Detalle del extremo libre del lóbulo izquierdo que se proyecta hacia el polo craneal del riñón derecho.



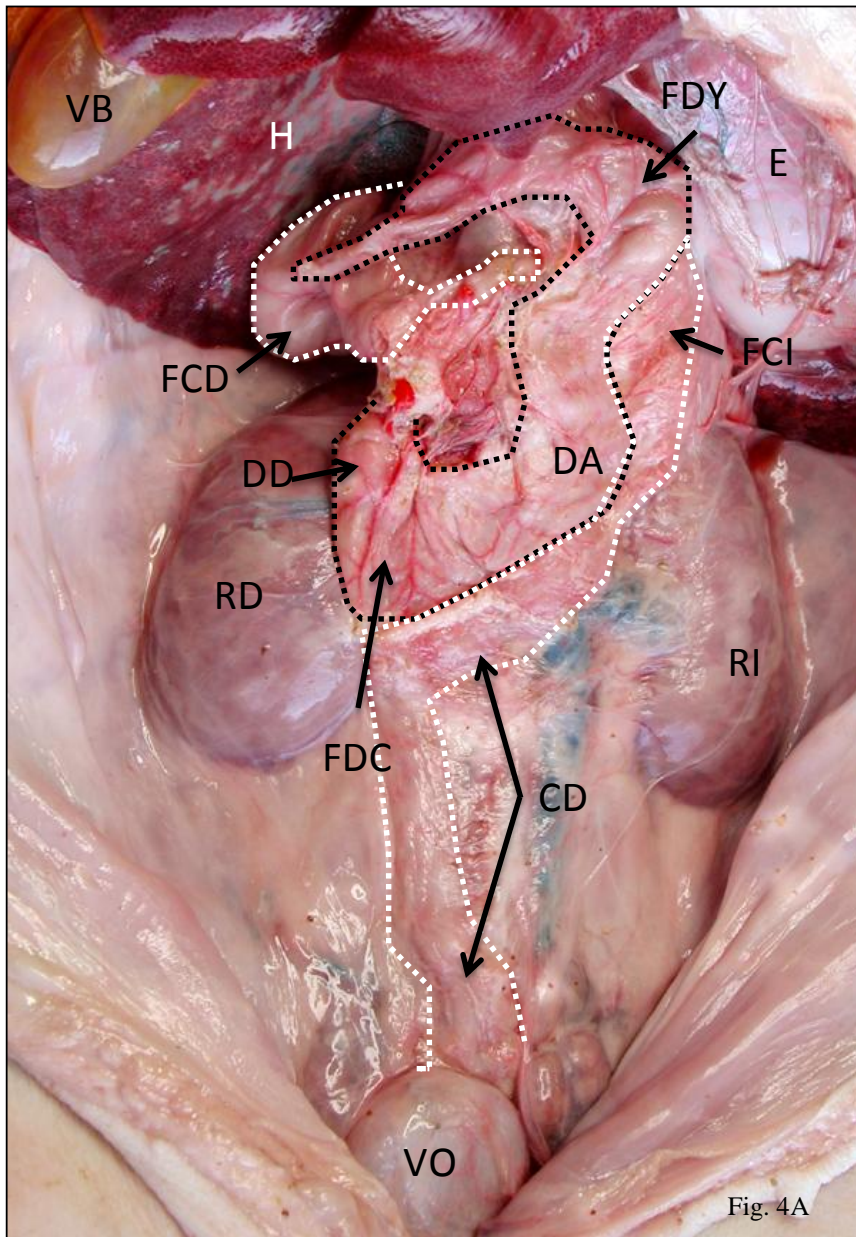
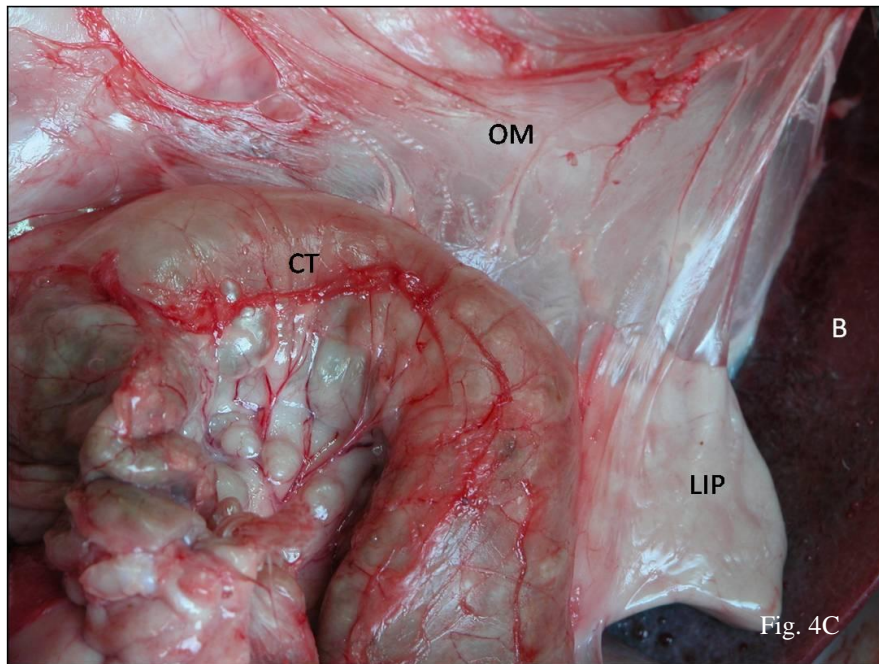
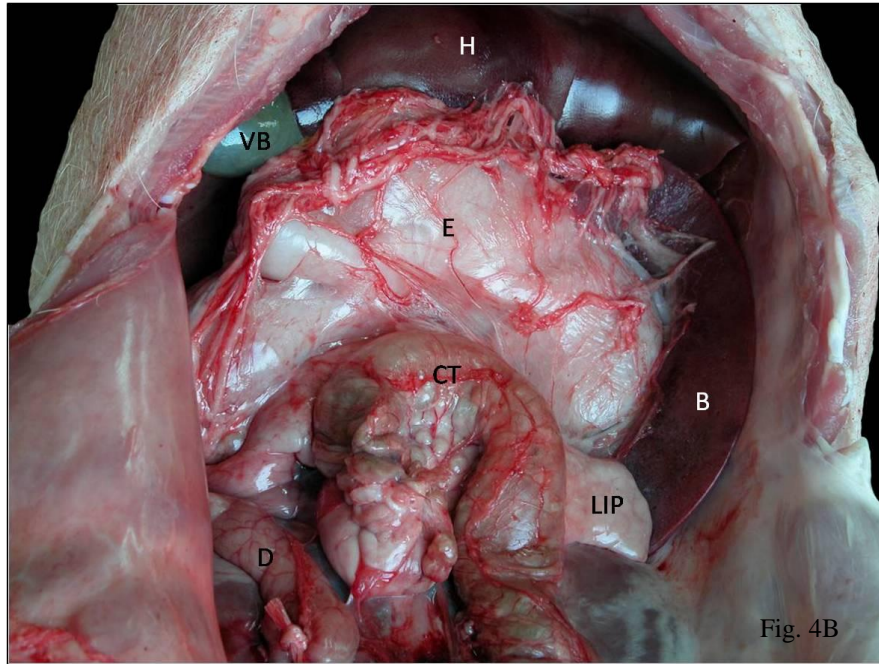


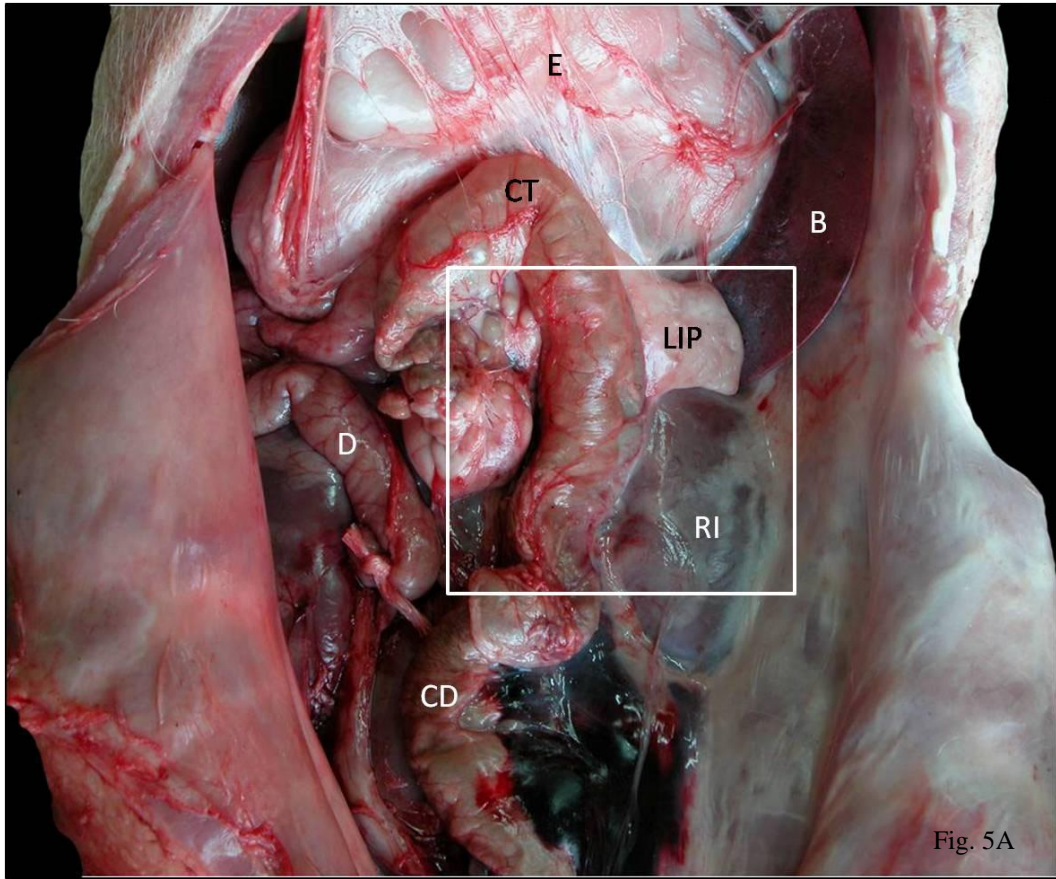
Fig. 4A

**Figura 4A:** Aspecto del techo de la cavidad abdominal tras seccionar la raíz del mesenterio junto a gran parte del paquete intestinal. El trazo discontinuo negro representa la extensión del duodeno. En trazo discontinuo blanco se representa la extensión del colon.



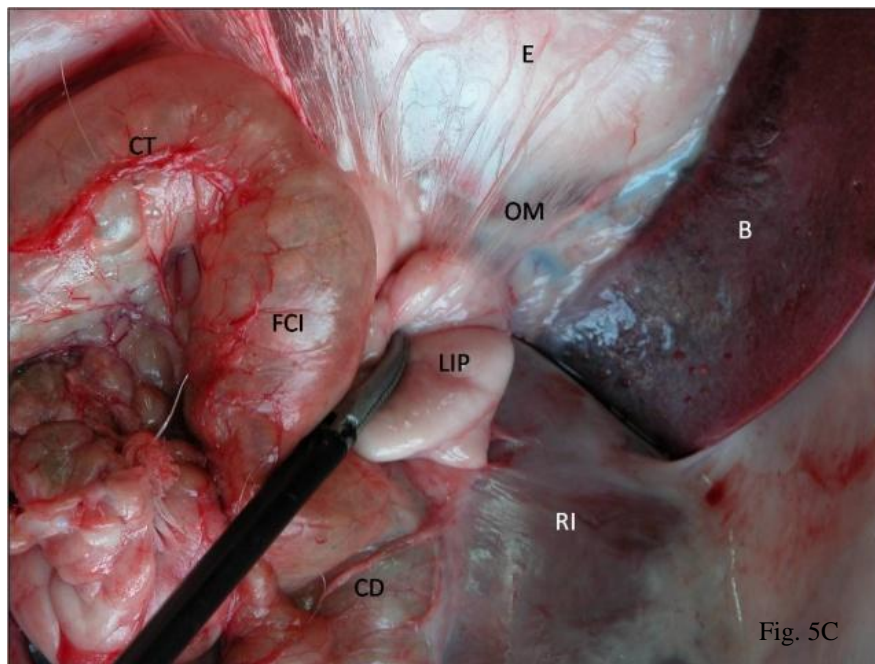
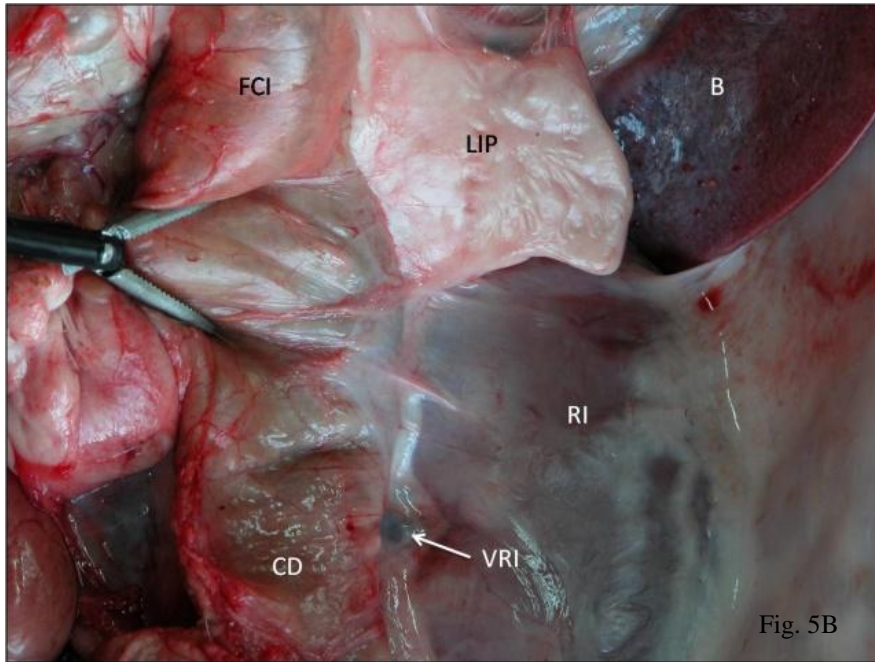
**Figuras 4B-C:** Aspecto del omento mayor en su extensión desde la curvatura mayor del estómago hasta su fijación en el borde antimesentérico del colon transverso.



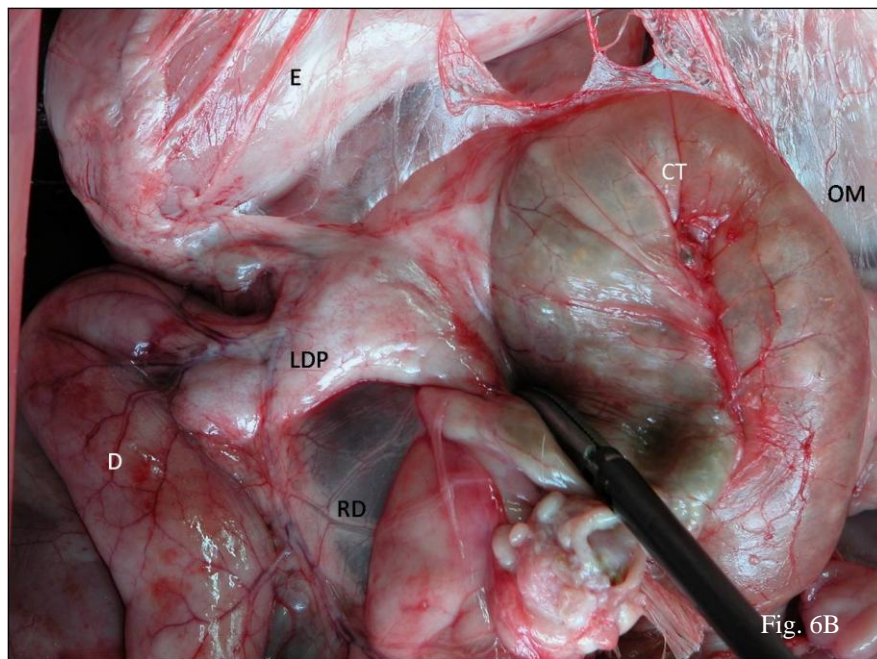
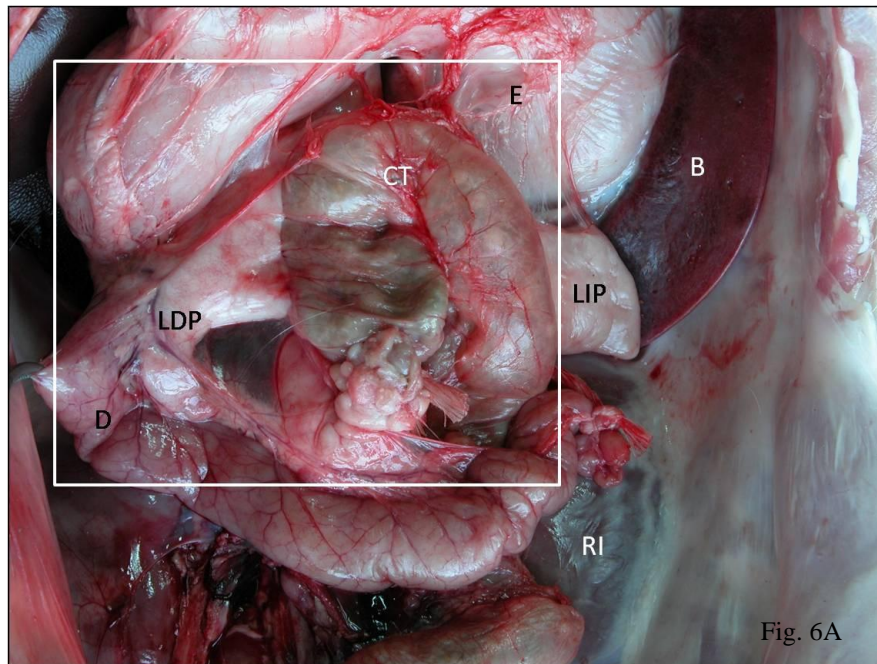


*Figura 5A: Imagen sobre la topografía del lóbulo izquierdo del páncreas.*



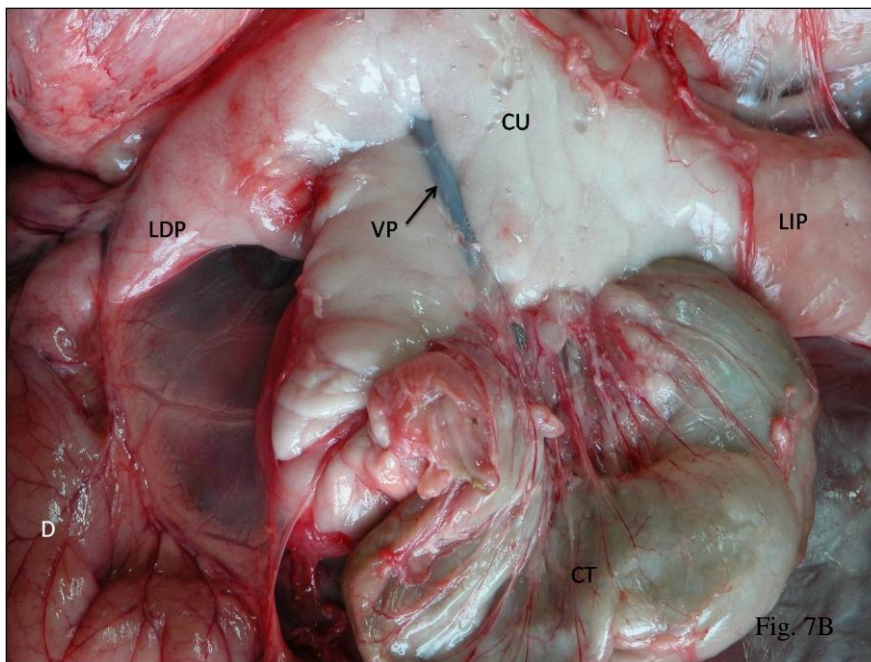
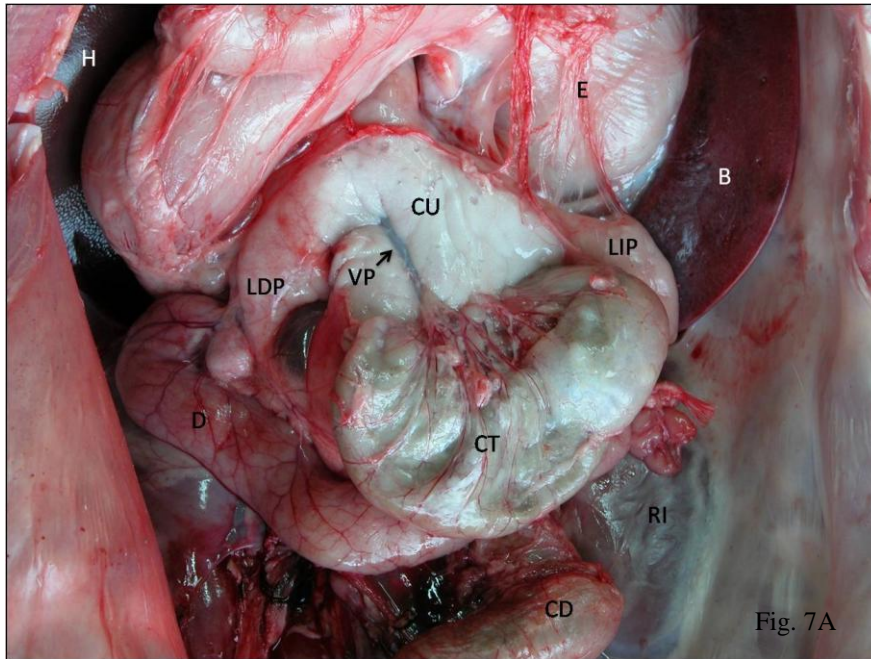


**Figuras 5B-C:** Imágenes ampliadas del cuadro marcado en 5A. **B:** Tensión aplicada sobre colon descendente y flexura cólica izquierda para mostrar la posición retroperitoneal. **C:** Tensión sobre el lóbulo izquierdo del páncreas para mostrar su relación con el omento mayor.

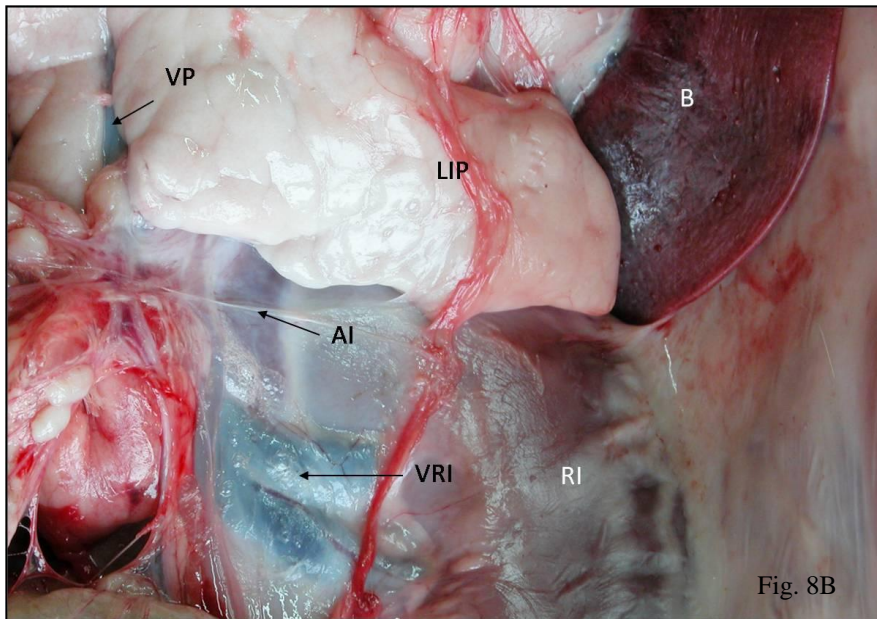
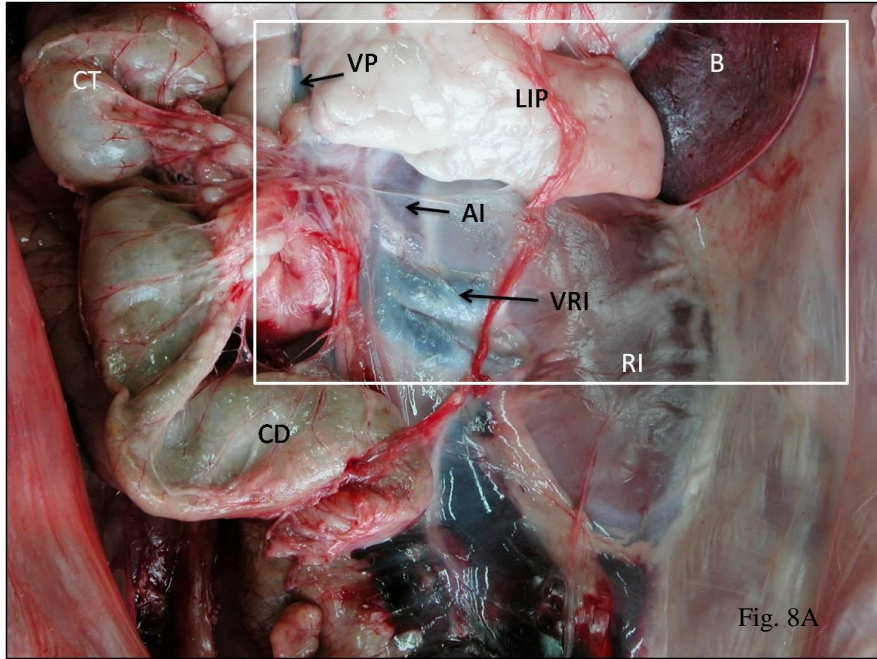


**Figura 6:** Topografía del lóbulo derecho del páncreas. **A:** Relación del lóbulo derecho del páncreas con el colón transverso y la flexura cólica derecha. **B:** Ampliación de la zona marcada en A. Tensión aplicada sobre la flexura cólica derecha para observar la relación del omento mayor con el lóbulo derecho del páncreas.



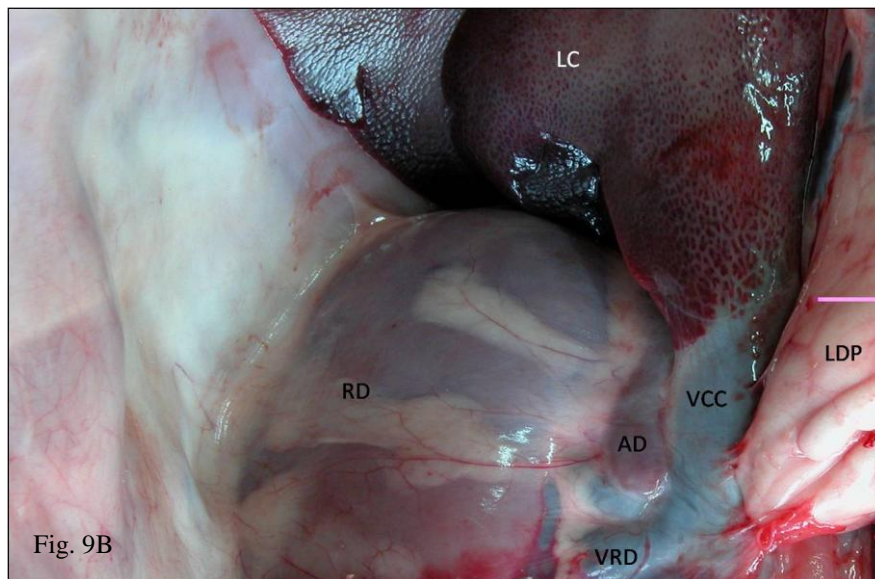
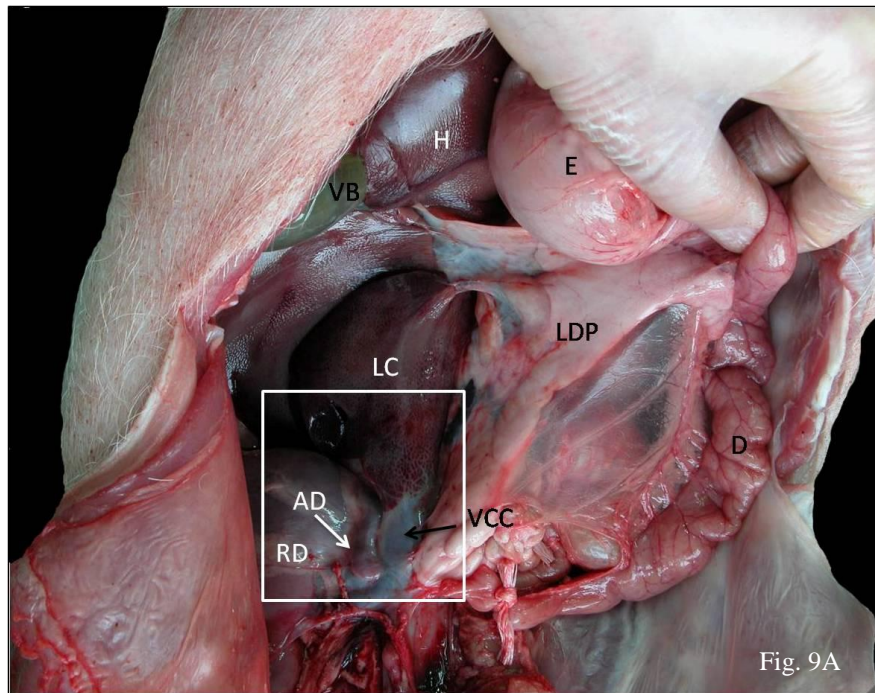


**Figura 7:** Disección del colon transverso. **A:** Imagen tras retirar hacia caudal el colon transverso. Se aprecia el área desnuda del páncreas. **B:** Ampliación de la imagen anterior.



**Figura 8:** Disección de colon descendente, flexura cólica izquierda. **A:** Se aprecia las estructuras anatómicas cubiertas por esta parte del colón. **B:** Ampliación de la imagen anterior.





**Figura 9:** Topografía del lóbulo derecho del páncreas al traccionar el duodeno. **A:** Al liberar la flexura cólica derecha se puede observar la parte retroperitoneal del lóbulo derecho del páncreas junto a la vena cava caudal. **B:** Ampliación de la imagen anterior.



Fig. 10A



Fig. 10B



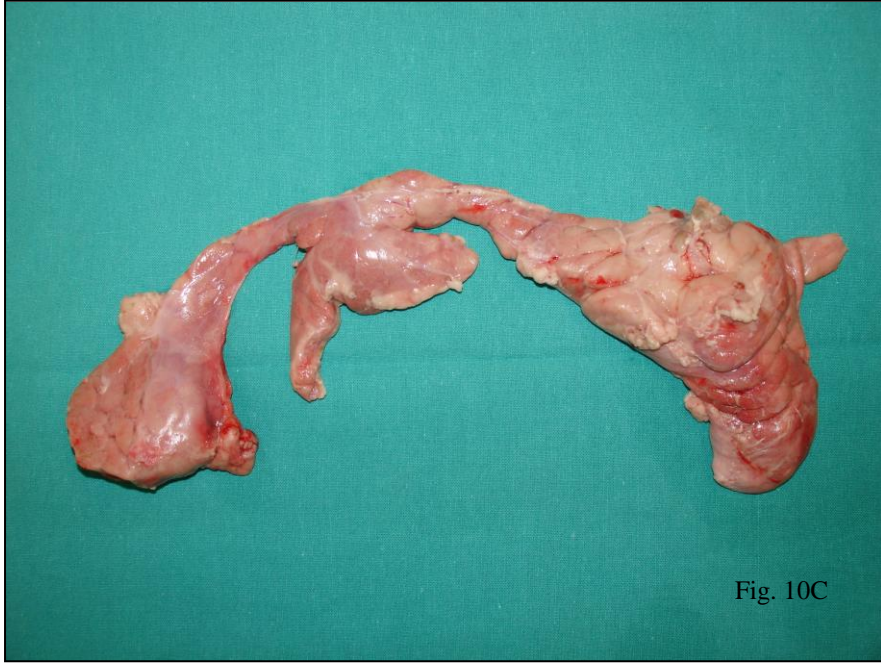


Fig. 10C

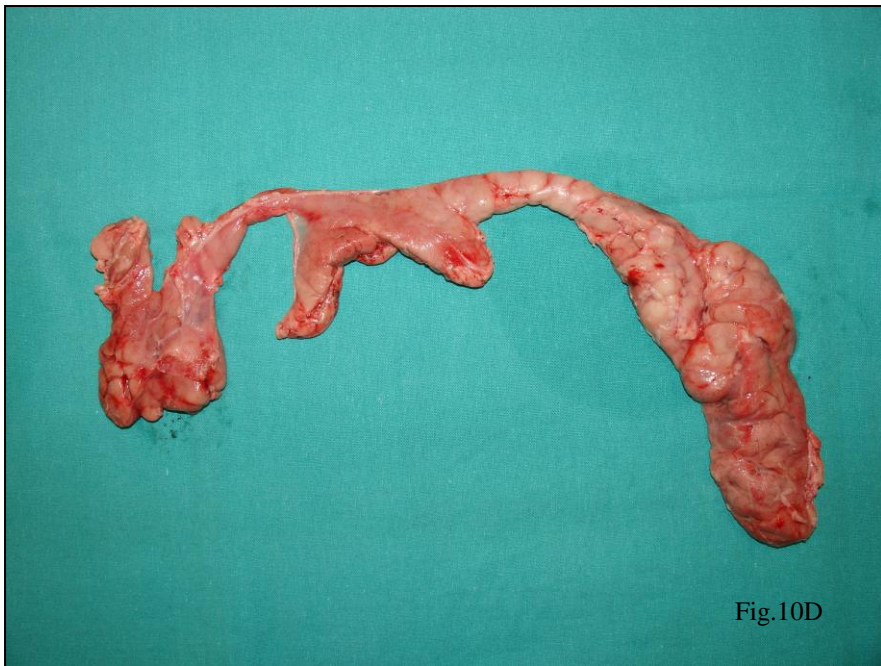


Fig.10D

#### **4.1.2 Anatomía seccional del páncreas.**

##### **4.1.2.1 Resultados sobre la distribución del páncreas en las imágenes seriadas transversales de RM del abdomen.**

La diferenciación tisular obtenida con las exploraciones mediante RM nos ha permitido identificar el área ocupada por el páncreas en cada una de las secciones corporales del abdomen. El estudio de la distribución de estas áreas referido al nivel vertebral afectado en el corte, nos indica que el páncreas se extiende, en todos los animales explorados, entre los niveles T14 y L1. Sin embargo, en algunos animales se han visto afectados segmentos vertebrales más craneales como los T12 y T13, o más caudales como el L2. No obstante, en estos niveles el área pancreática afectada es bastante pequeña, en comparación con la correspondiente a los niveles T14-L1.

Presentamos, como ejemplo, una secuencia de 50 cortes transversales desde el nivel T14 (Figs. T14-1 a T14-14) al nivel L2 (Figs. L2-1 a L2-8) donde se destaca la extensión del páncreas, empleando para ello el programa Osirix.

Los cortes más craneales, correspondientes al tercio craneal de la T14, interesan a la parte del lóbulo derecho que se extiende por el mesoduodeno (Figs T14-1 a T14-5). En el tercio medio de la T14 se adiciona parte del cuerpo del páncreas, ocupando una posición en línea media (Figs. T14-6 a T14-10). En el tercio caudal de la T14 se aprecia cómo aumenta la sección del cuerpo del páncreas (Figs. T14-11 a T14-14). En los cortes correspondientes al tercio



craneal de la T15 se observa cómo se incorpora de forma progresiva el lóbulo izquierdo (Figs. T15-1 a T15-6). El lóbulo izquierdo ocupa, de forma casi exclusiva, el área correspondiente al páncreas en los cortes del tercio medio del nivel vertebral T15 (Figs. T15-6 a T-15-10). El tercio caudal de este nivel T15 se caracteriza por una reducción progresiva de la sección correspondiente al lóbulo izquierdo del páncreas (Figs. T15-11 a T15-14). En los cortes que se corresponden con el tercio craneal del nivel vertebral L1 se aprecia cómo desaparece la sección del lóbulo izquierdo del páncreas y cómo se incorpora a la imagen la porción más profunda del lóbulo derecho del páncreas (Figs. L1-1 a L1- 5). Los tercios medio y caudal del nivel vertebral L1 inciden de forma constante una pequeña sección del lóbulo derecho del páncreas (Figs. L1-6 a L1-14). En la secuencia de imágenes seriadas transversales de RM que presentamos como ejemplo, el páncreas se ve incidido en la mitad craneal del nivel lumbar L2, pudiendo apreciarse cómo se va reduciendo progresivamente la sección del lóbulo derecho del páncreas hasta terminar por desaparecer (Figs. L2-1 a L2-8).

Para el estudio morfométrico de las áreas correspondientes al páncreas, los cortes se agruparon por niveles vertebrales. Dentro de un mismo nivel vertebral se obtuvieron una media de 14 secciones que fueron a su vez ordenadas, atendiendo a su posición, en tres grupos: tercio craneal, tercio medio y tercio caudal (Tabla pág. 86). Al analizar las áreas para un mismo nivel de corte no se encontraron diferencias significativas entre los seis animales explorados. Ello indica que la posición del páncreas es estable y no

se ve afectada por la variable situación de otras vísceras, tales como el bazo, el estómago o el hígado.

Con la finalidad de obtener un solo dato de área por imagen de RM se decidió incluir en el estudio la sección correspondiente a la vena porta. De esta manera la vena porta permitió establecer un punto de conexión entre las secciones del lóbulo derecho e izquierdo, en aquellos cortes en los que no se afectaba el cuerpo como estructura interpuesta entre ambos lóbulos.

Los niveles T14, T15 y L1 (tercio craneal) afectaron al páncreas en todos los animales, motivo por el cual la “n” (número de cortes) para dichos niveles fue superior al resto (>22). Los niveles T13 y L1 (tercios medio y caudal) afectaron a la mitad de los animales, lo que supuso una “n” menor a la referida anteriormente (<15). Los niveles T12 y L2 aparecen en el estudio con una “n”, muy baja (1-8) debido a que en muy pocos animales el páncreas se proyectó hasta estos niveles extremos, tanto craneal como caudalmente. (Tabla pág. 89)

Los valores medios para cada nivel de corte se reflejan en la tabla de la página 92 y en la gráfica de la página 91. El estudio morfométrico del área ocupada por páncreas indica una mayor presencia de parénquima pancreático en los cortes correspondientes a los niveles vertebrales T14 y T15. En concreto, se aprecia un incremento gradual en el tamaño de la sección del páncreas desde el tercio craneal del nivel T14 hasta el tercio medio del T15. El valor máximo lo corresponde a los cortes del tercio medio de T15, nivel ocupado mayoritariamente por el lóbulo izquierdo del páncreas. Desde el tercio

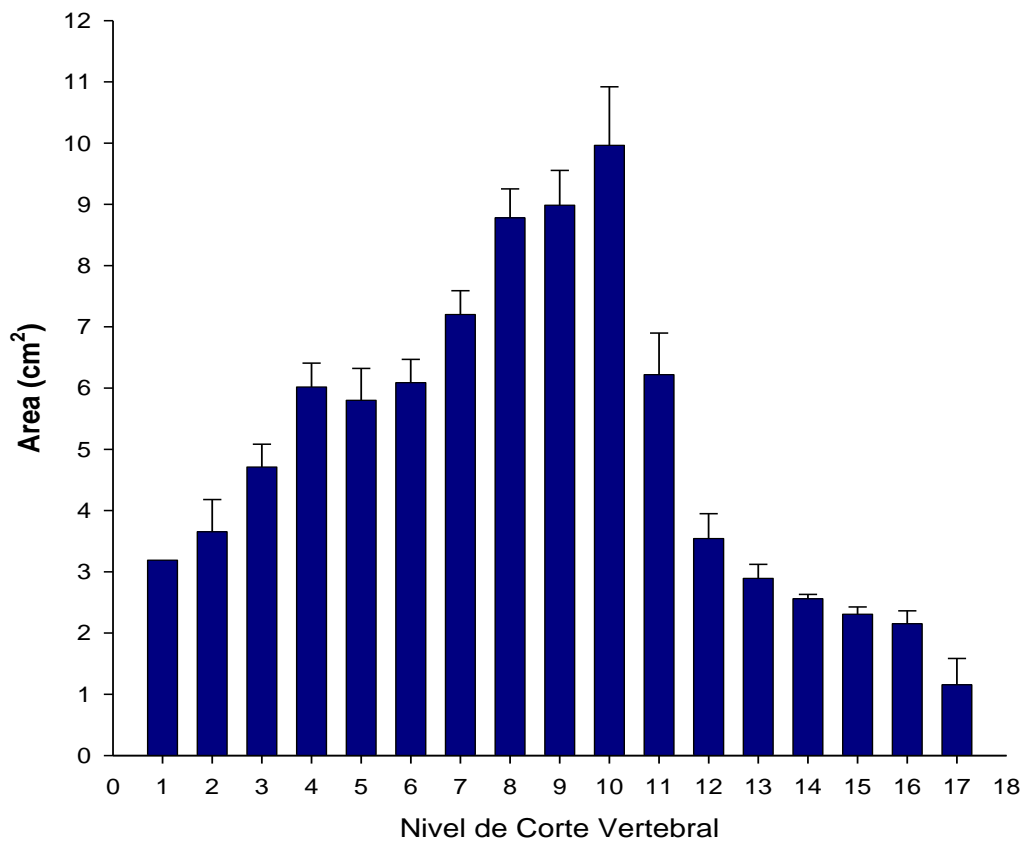
caudal de la T15 hasta niveles lumbares se asiste a una disminución del área de páncreas en los cortes. En concreto, el área del páncreas para el tercio caudal del nivel T15 es aproximadamente el 60% del correspondiente a su tercio medio. A su vez el área del tercio craneal del nivel L1 es aproximadamente el 50% del valor para el tercio caudal del nivel T15 y aproximadamente el 30% del valor para su tercio medio. El área media ocupada por el páncreas en los niveles extremos craneales (T12 y T13) es superior a la que presentan los cortes correspondientes a los niveles extremos caudales (L1 y L2 (Gráfica pág. 90 y Tabla pág. 91).

Los valores de volumen total del páncreas, obtenidos mediante reconstrucción volumétrica de los cortes de resonancia magnética, se reflejan en la tabla de la página 104. Los valores mayores de volumen del páncreas no corresponden a los animales en los que el número de cortes afectados se extienden a vértebras más craneales o caudales. El incremento en volumen total de páncreas se debe a mayores secciones en los niveles vertebrales T14 y T15. Estas reconstrucciones volumétricas permiten a su vez reconstrucciones tridimensionales (Fig. 11) del páncreas, útiles para comprender la morfología de este órgano “in vivo”.

Nivel vertebral	Tercio vértebra	Numeración asignada
T12	medio	1
T12	caudal	2
T13	craneal	3
T13	medio	4
T13	caudal	5
T14	craneal	6
T14	medio	7
T14	caudal	8
T15	craneal	9
T15	medio	10
T15	caudal	11
L1	craneal	12
L1	medio	13
L1	caudal	14
L2	craneal	15
L2	medio	16
L2	caudal	17

*Correspondencia del nivel y tercio vertebrales con la numeración asignada para el estudio morfométrico.*

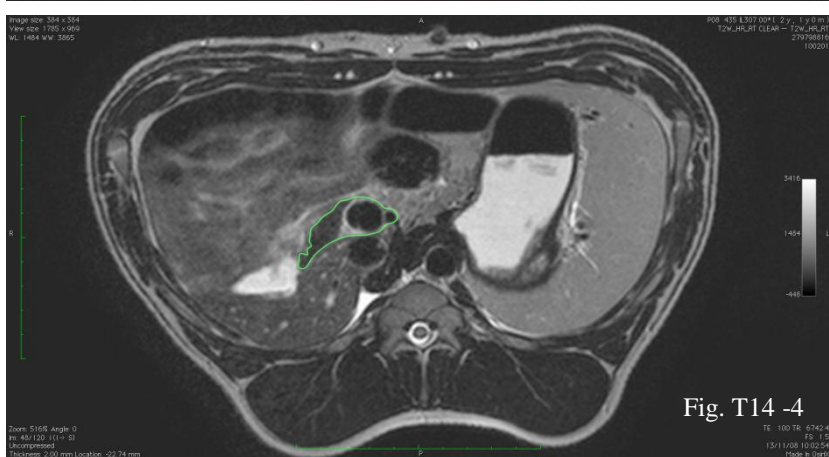
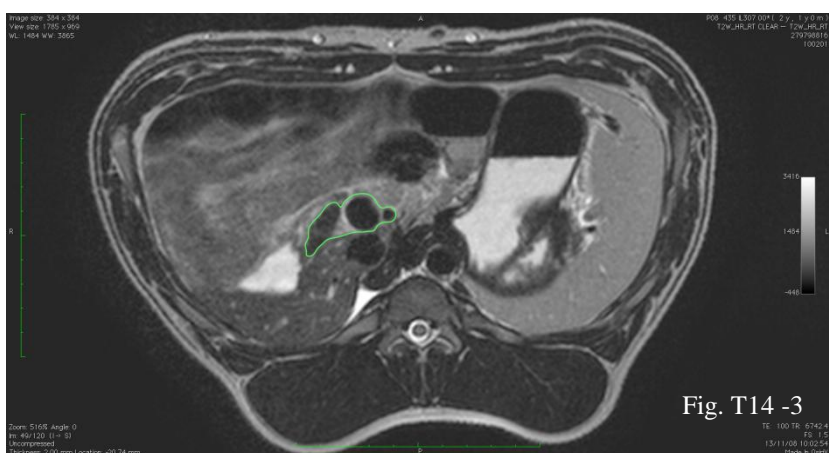
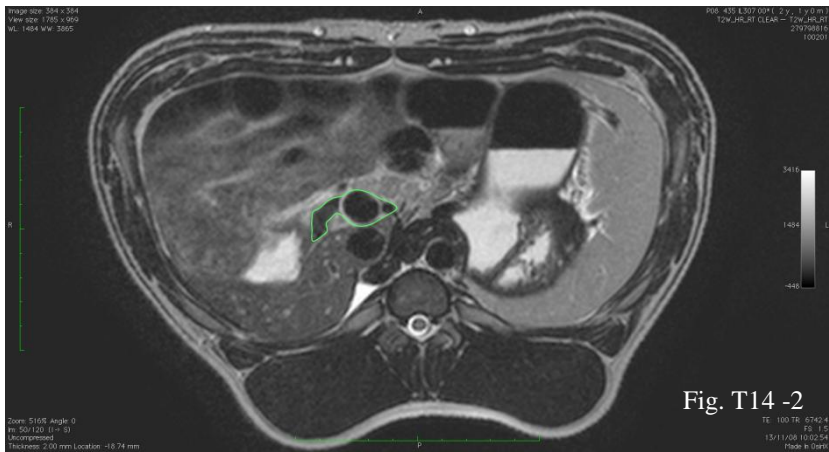
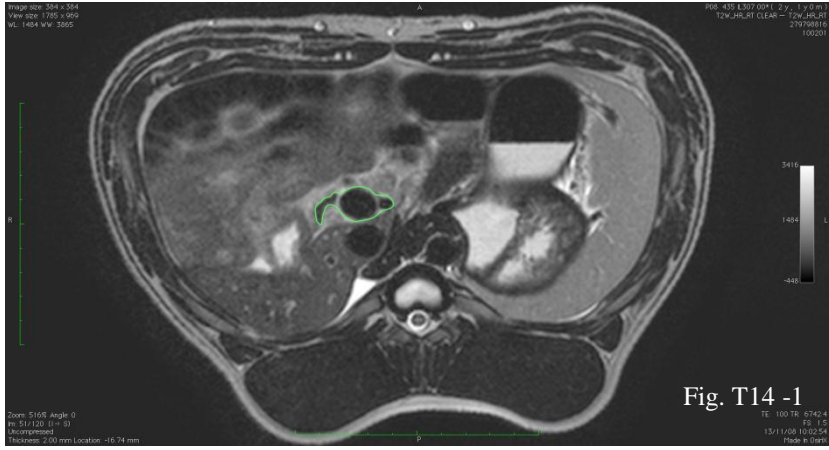
### DISTRIBUCIÓN DE PÁNCREAS POR NIVEL DE CORTE

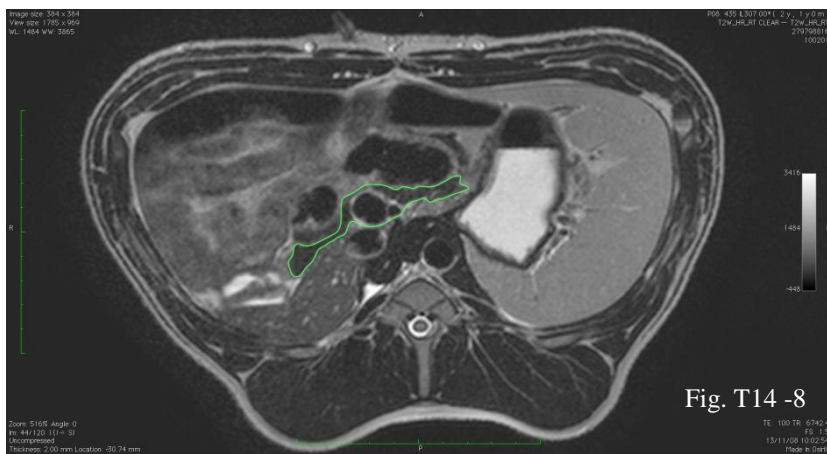
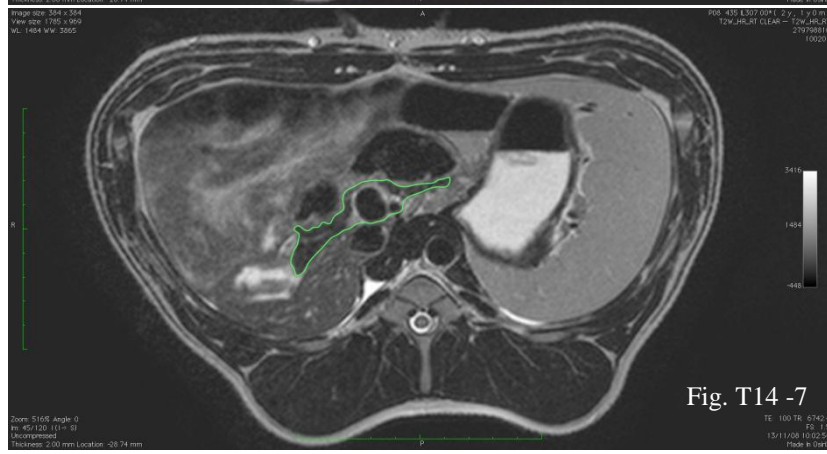
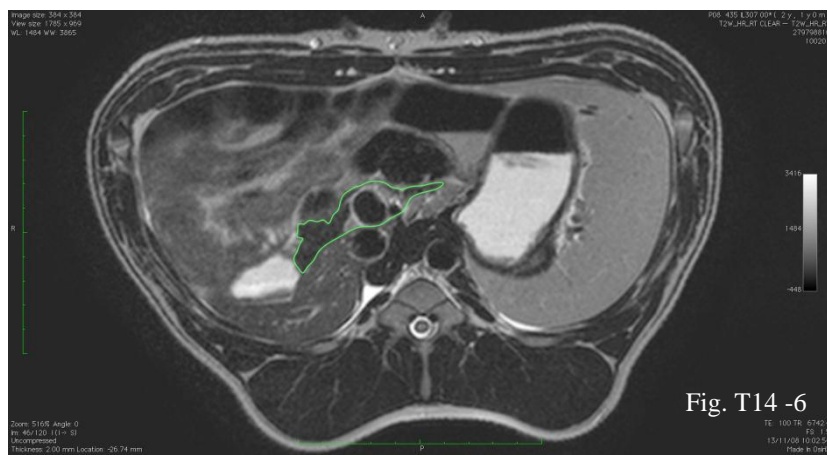
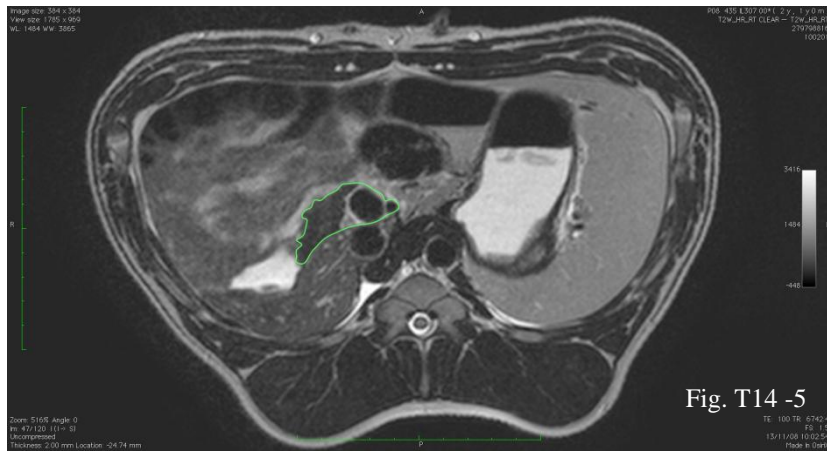


*Representación en diagrama de barras de los valores medios del área del páncreas en cada nivel de corte vertebral, expresados en cm².*

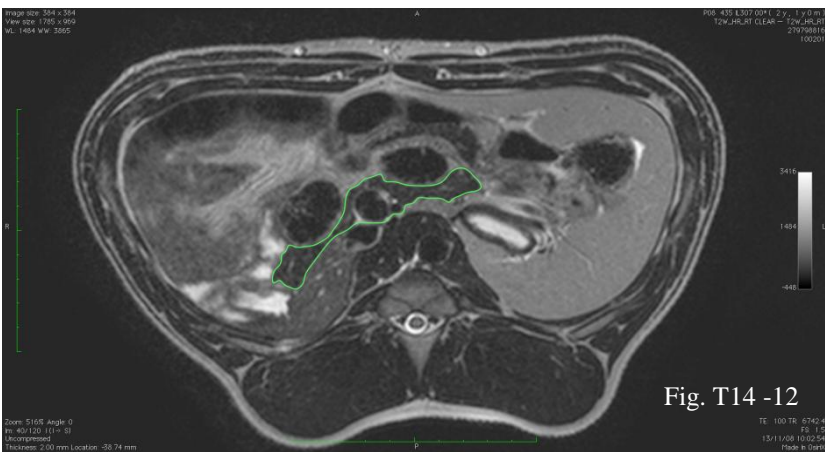
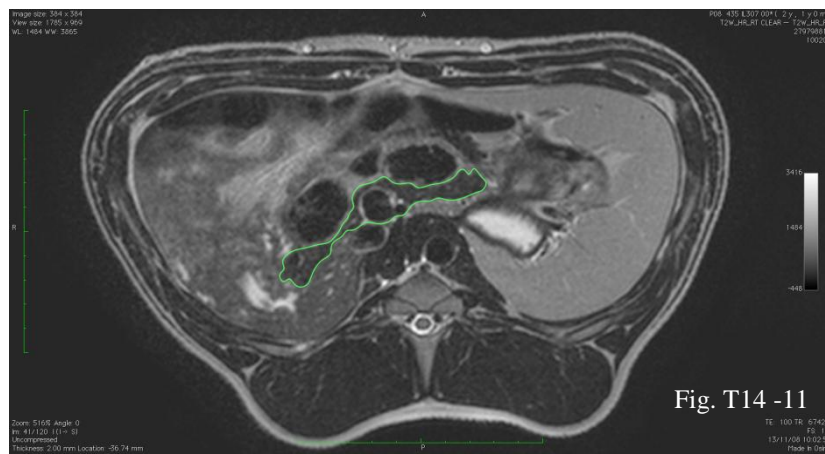
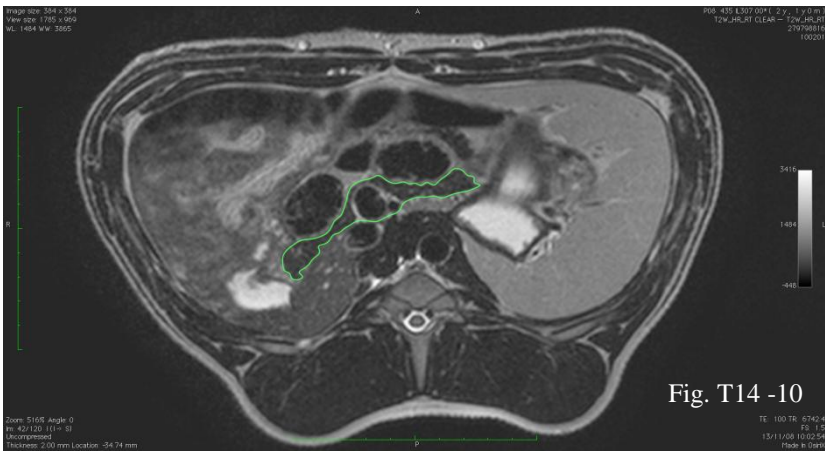
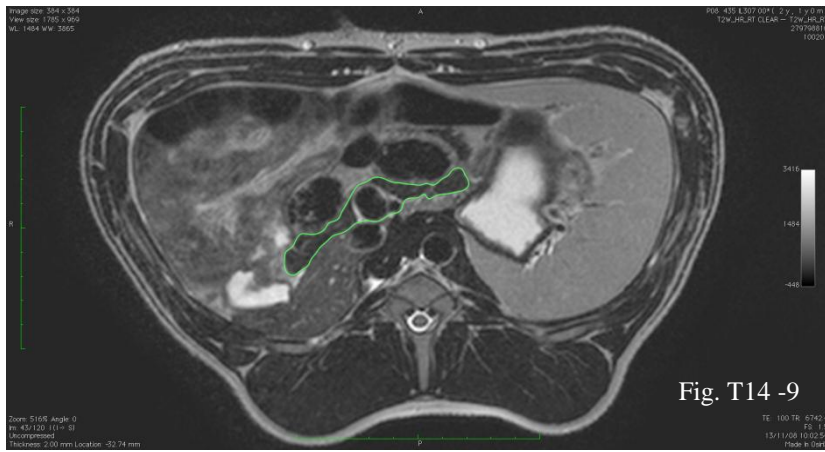
<b>NIVEL DE CORTE VERTEBRAL</b>	<b>n</b>	<b>ÁREA (cm<sup>2</sup>)</b>	<b>DESVIACIÓN TÍPICA</b>	<b>ERROR TÍPICO</b>
1	1	3,1904		
2	3	3,6529	0,91271	0,52695
3	14	4,7124	1,38929	0,37130
4	15	6,0183	1,50610	0,38887
5	13	5,8009	1,87538	0,52014
6	27	6,0893	1,97624	0,38033
7	24	7,2016	1,90446	0,38875
8	22	8,7806	2,21272	0,47175
9	25	8,9869	2,83849	0,56770
10	25	9,9639	4,77451	0,95490
11	22	6,2181	3,18826	0,67974
12	23	3,5431	1,94723	0,40603
13	15	2,8927	0,88721	0,22908
14	12	2,5611	0,24006	0,06930
15	8	2,3071	0,33953	0,12004
16	4	2,1527	0,42286	0,21143
17	3	1,1562	0,74251	0,42869

*Valores medios del área de páncreas en cada nivel de corte vertebral, expresados en cm<sup>2</sup>. Se refieren también los valores de desviación típica y error típico*

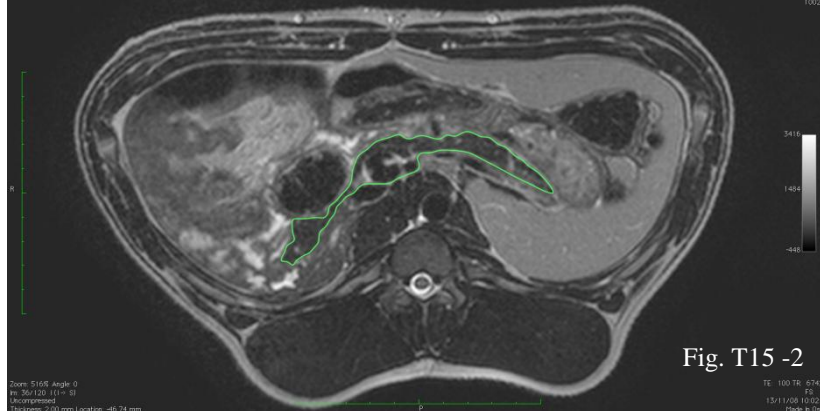
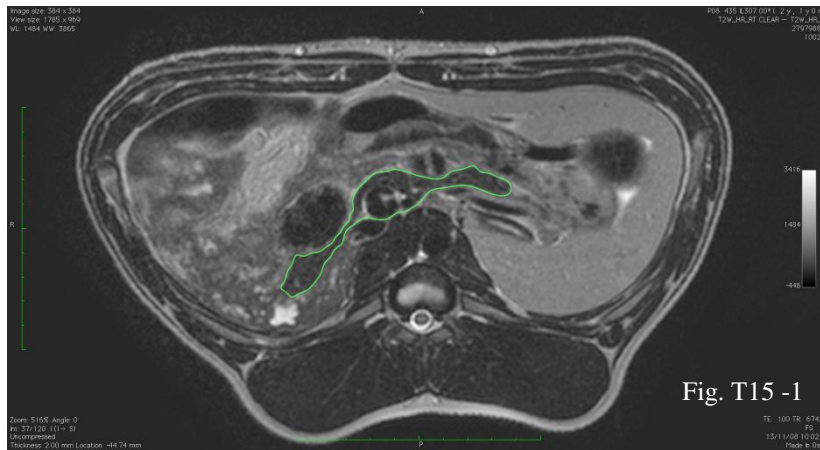
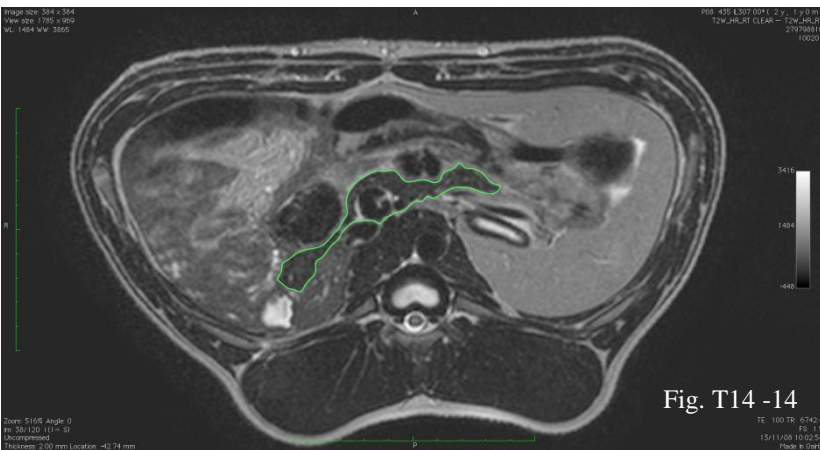
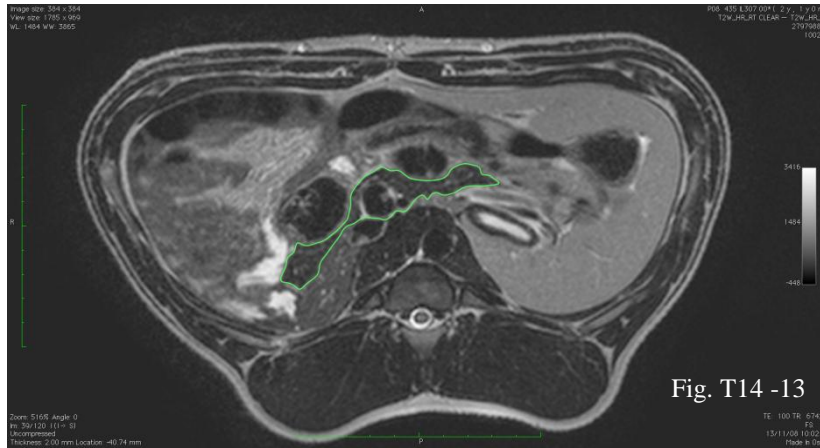












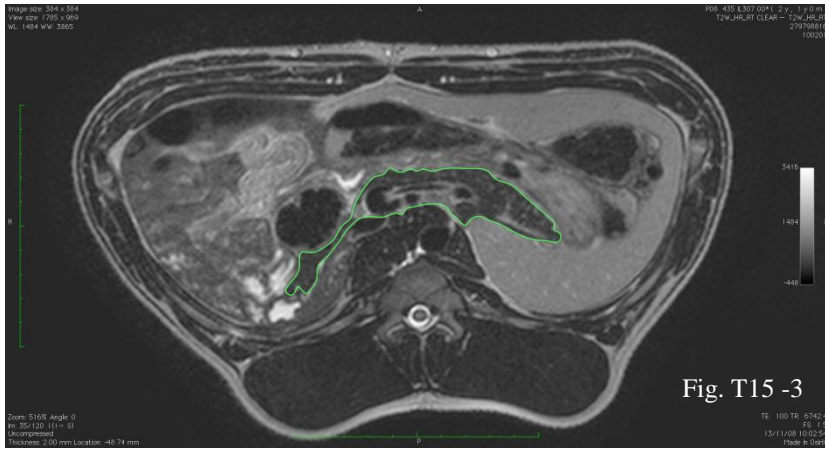


Fig. T15 -3

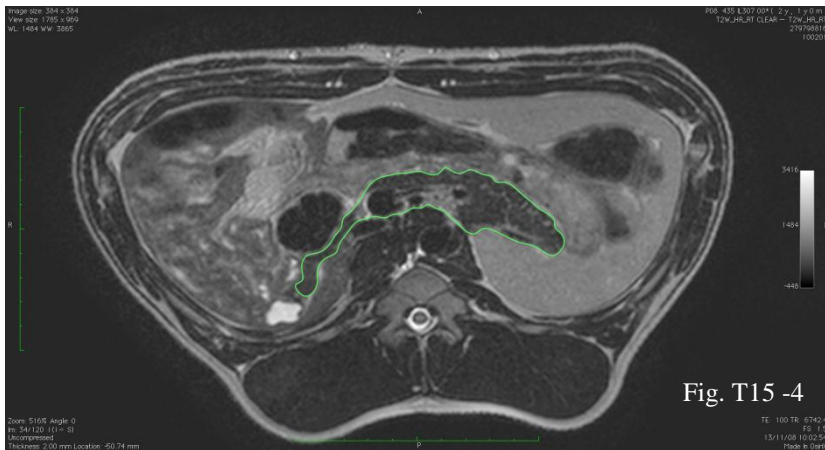


Fig. T15 -4

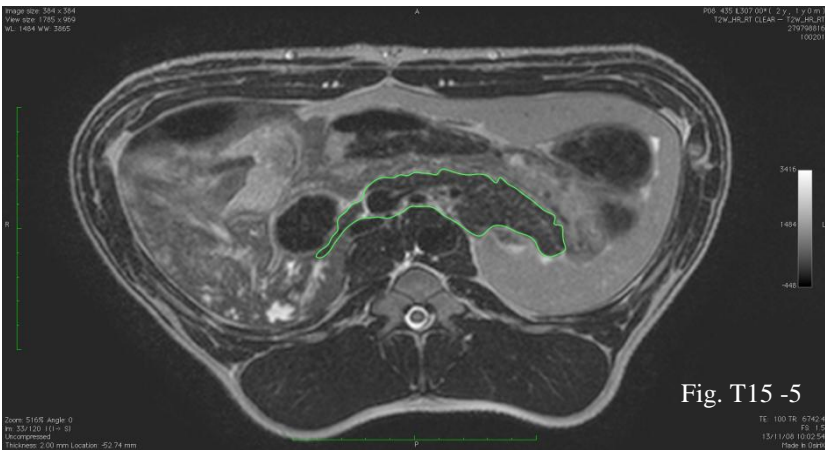


Fig. T15 -5

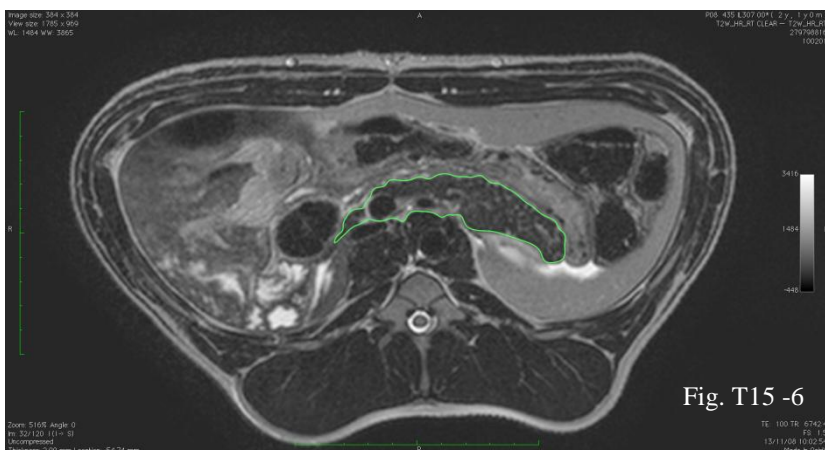


Fig. T15 -6

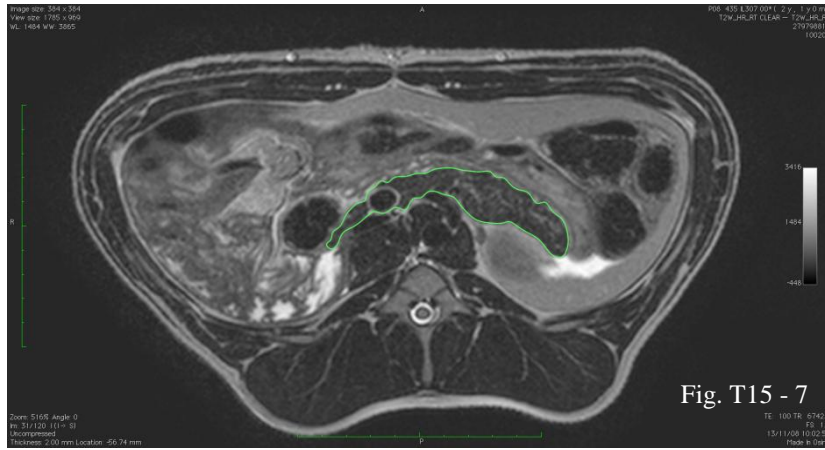


Fig. T15 - 7

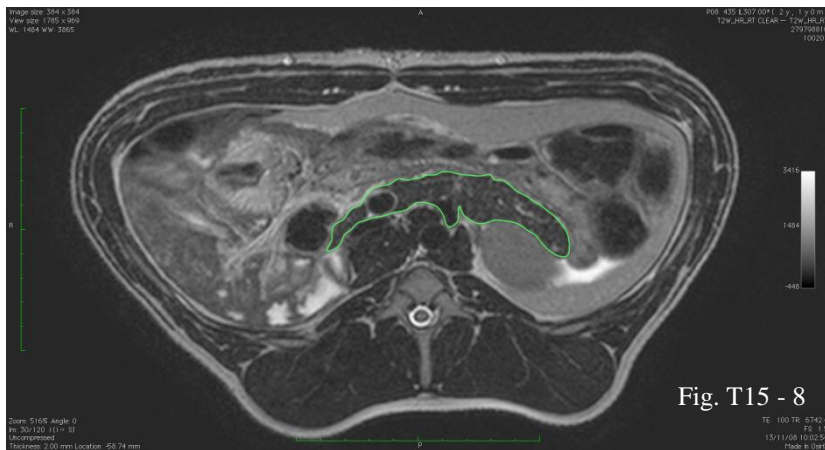


Fig. T15 - 8

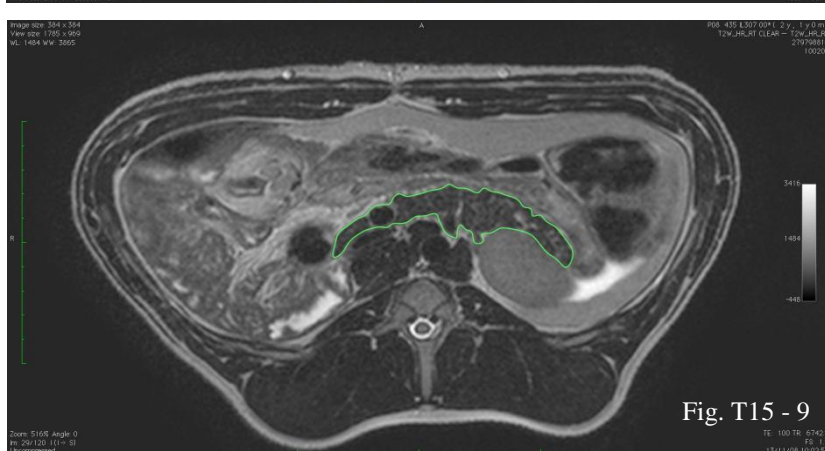


Fig. T15 - 9

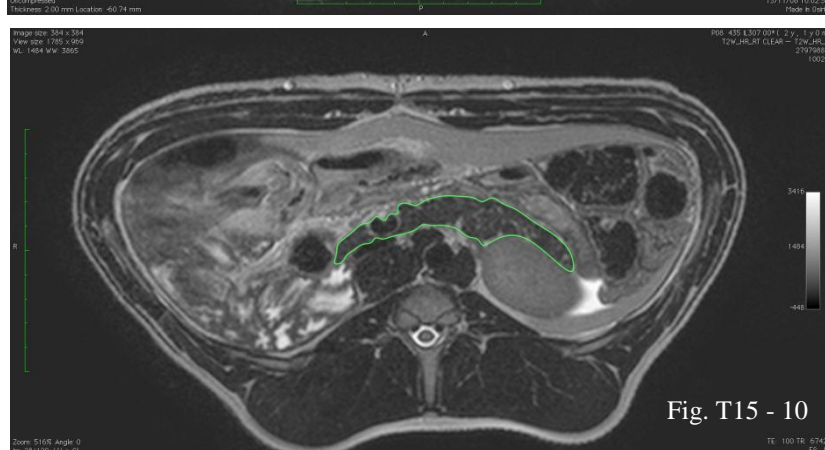
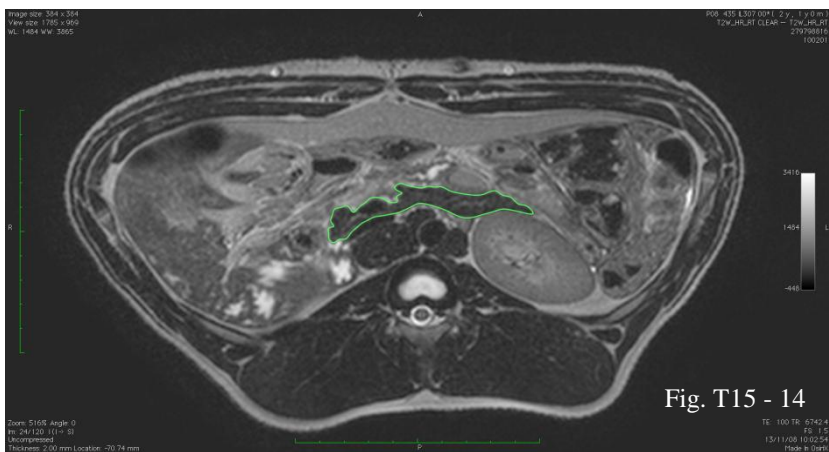
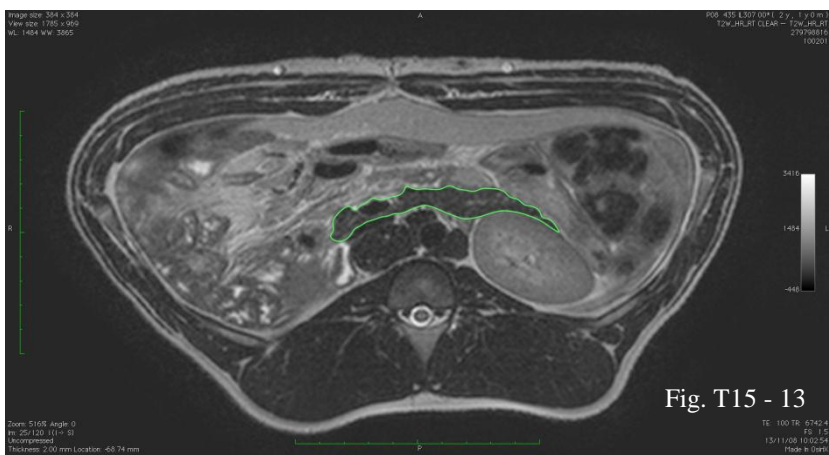
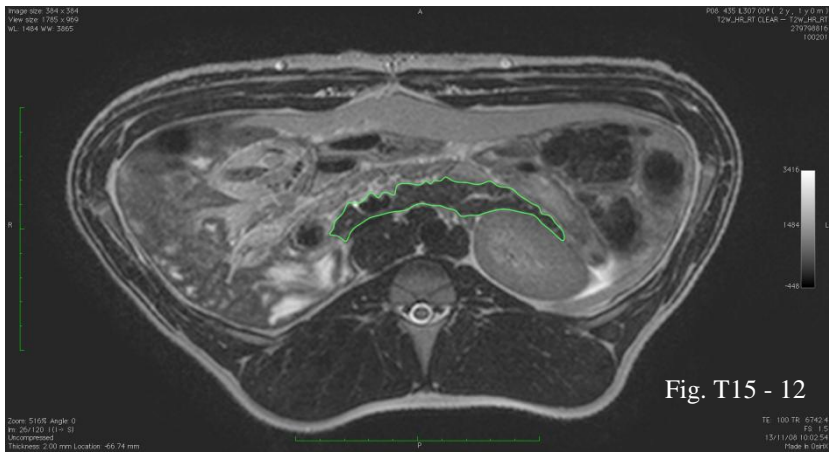
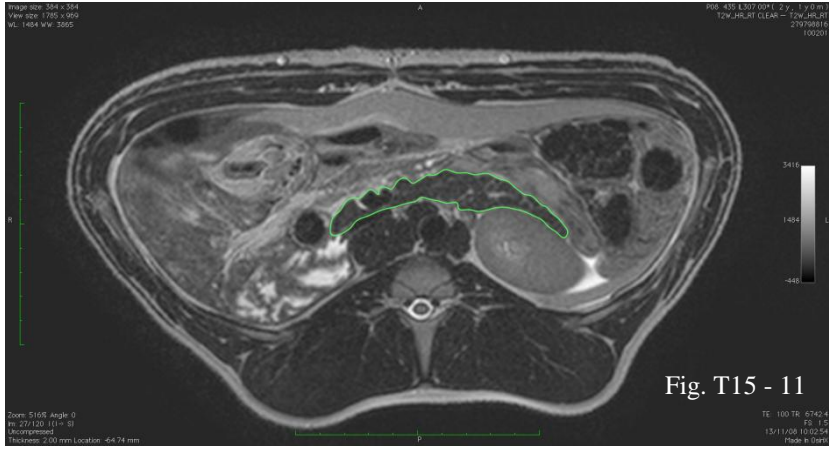


Fig. T15 - 10





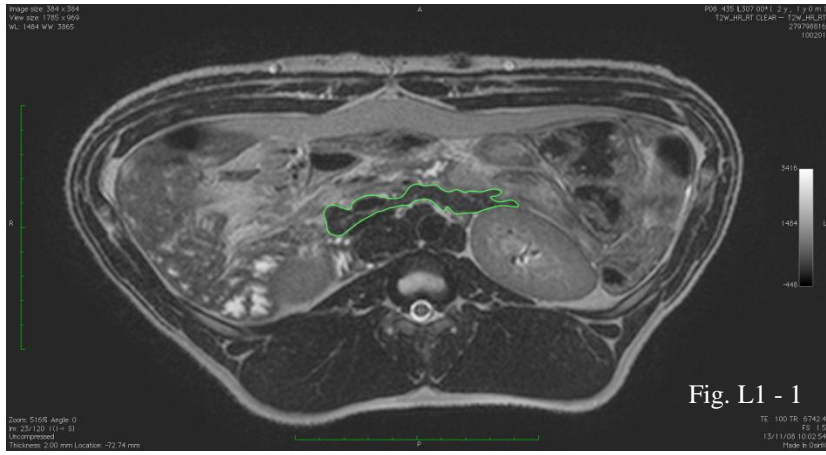


Fig. L1 - 1

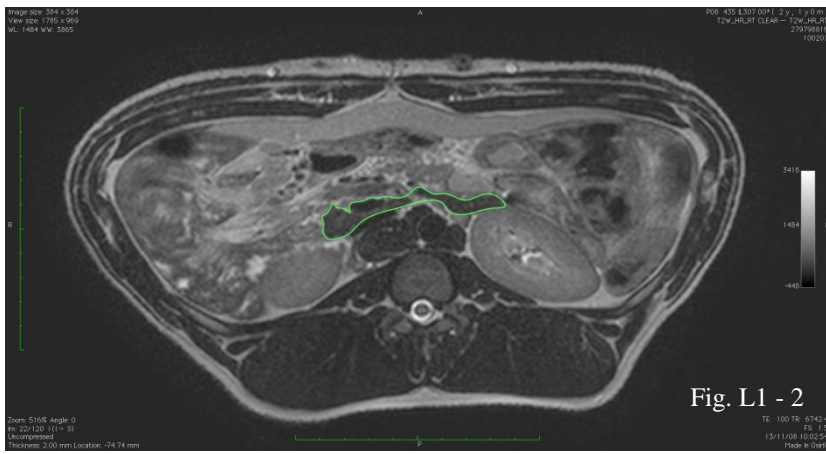


Fig. L1 - 2

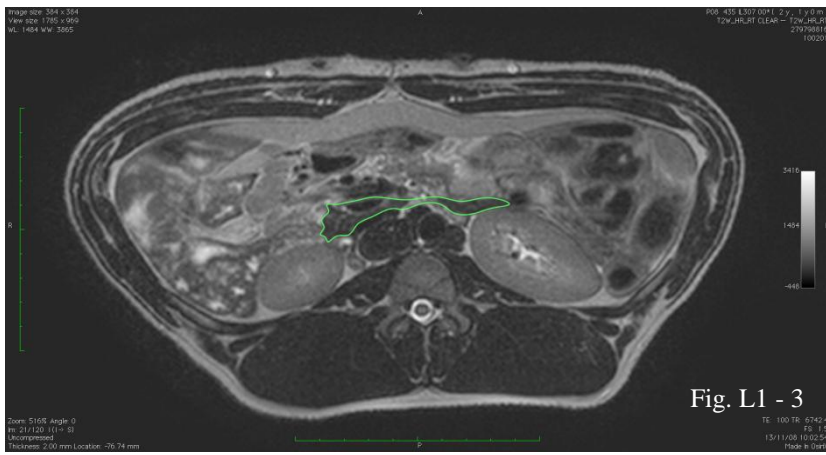


Fig. L1 - 3

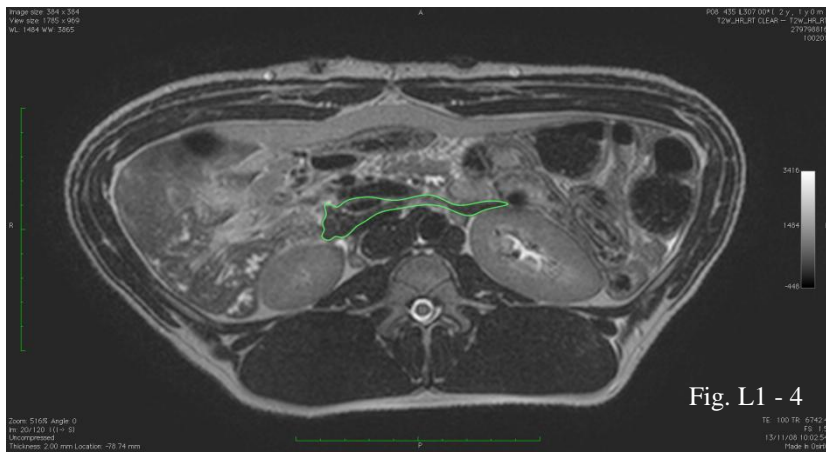
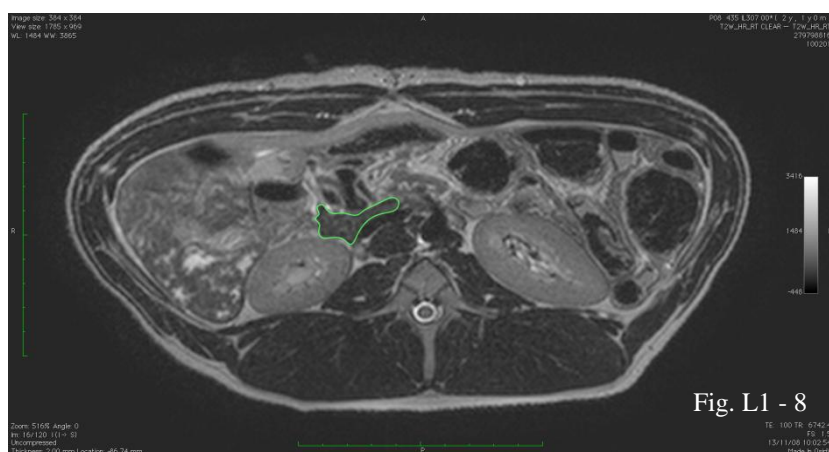
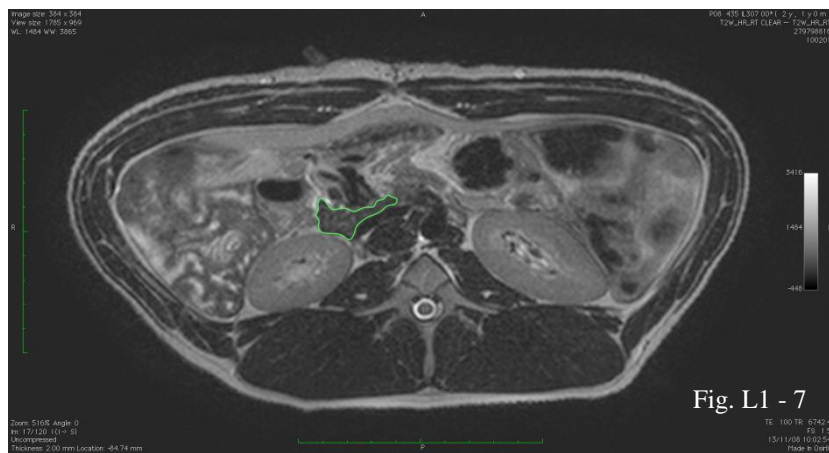
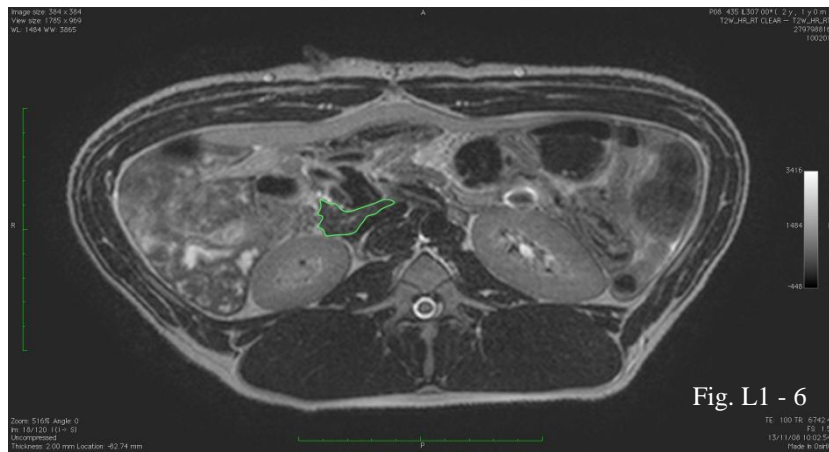
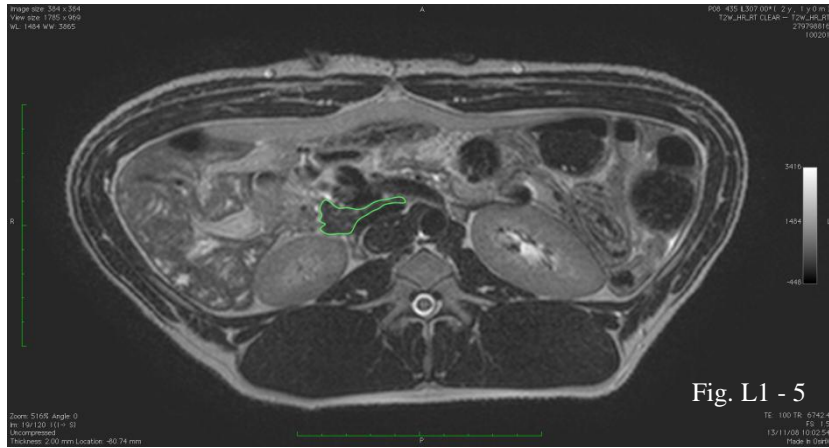
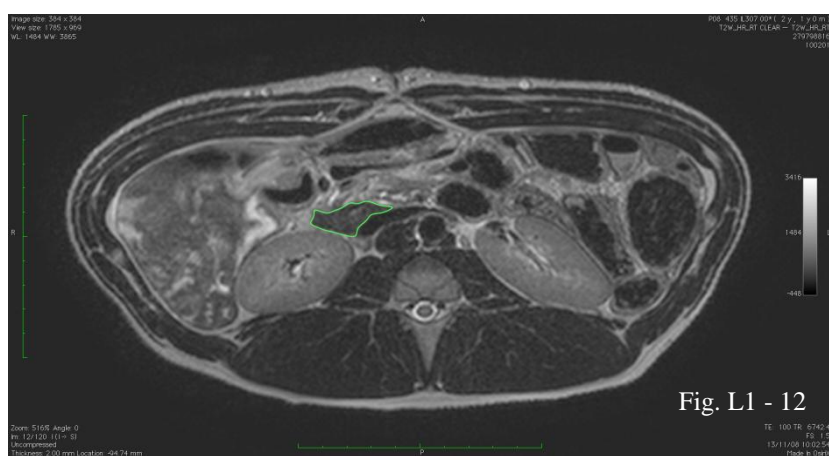
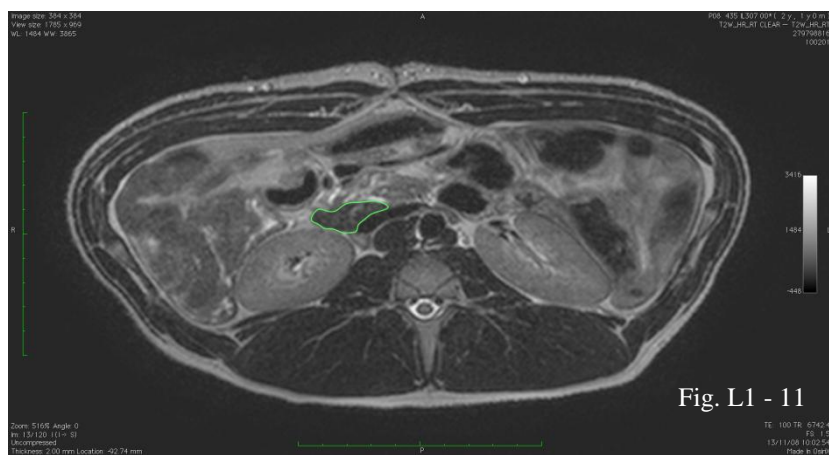
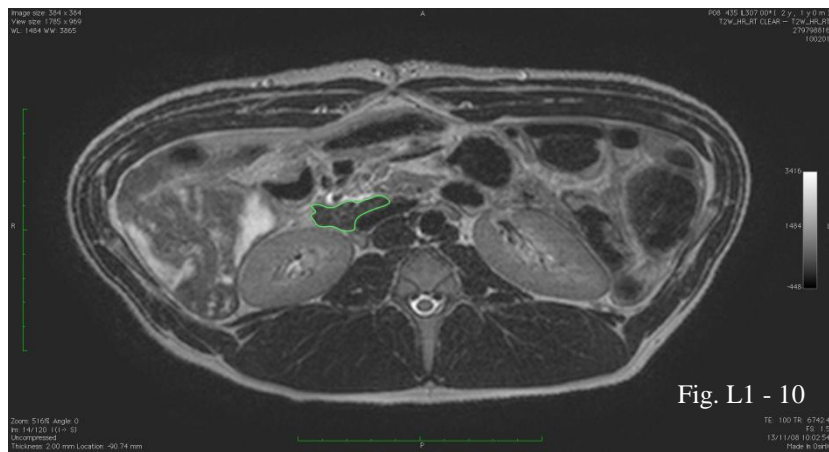
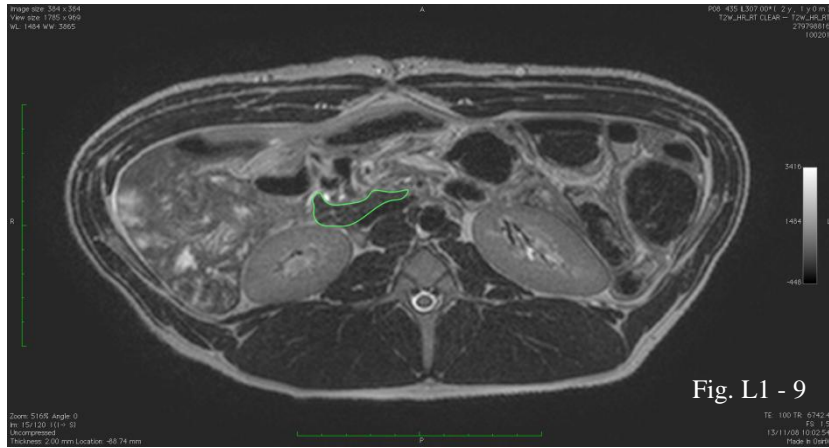
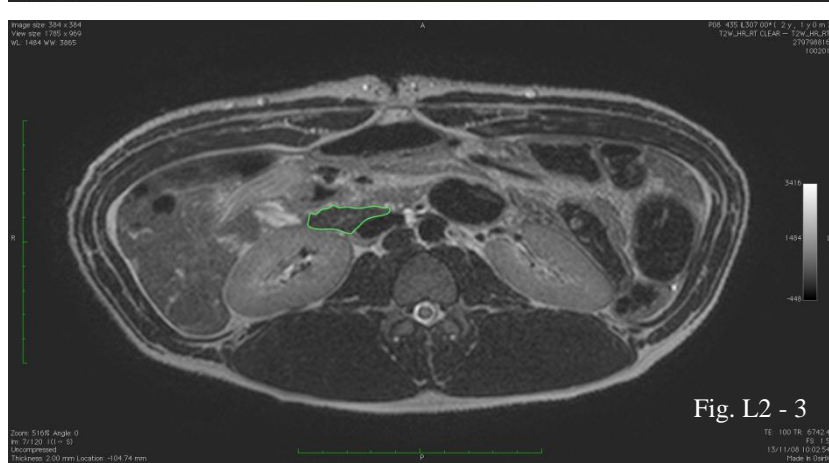
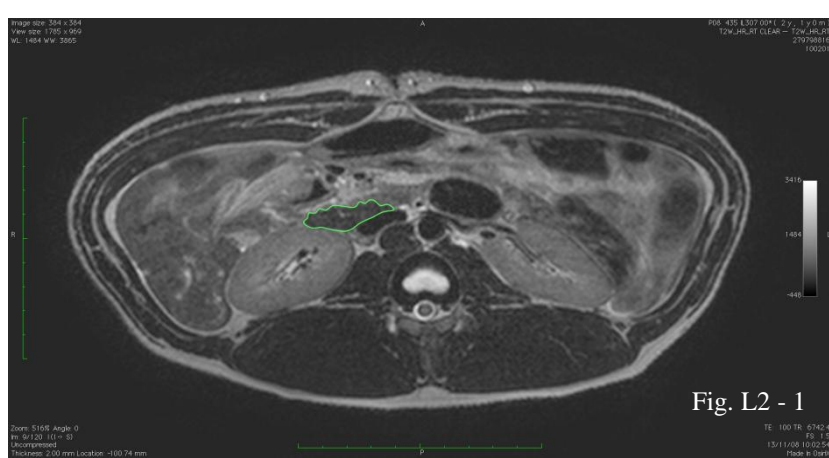
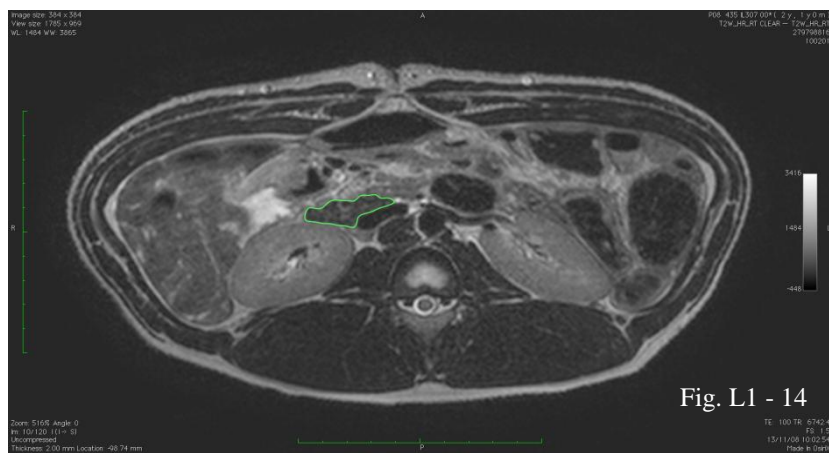
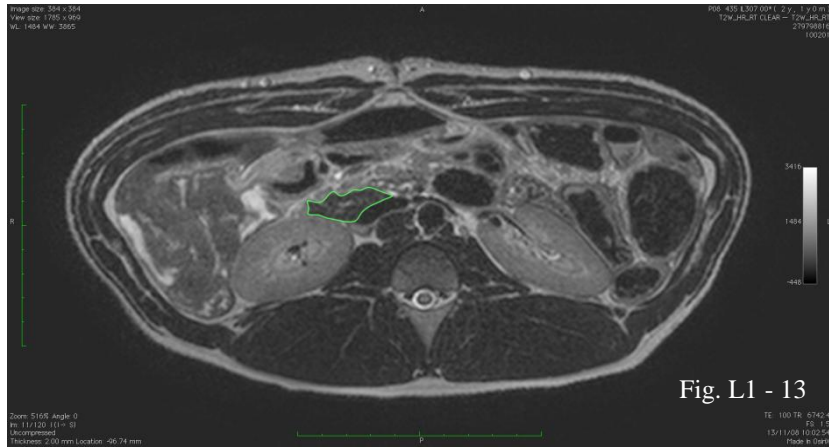


Fig. L1 - 4

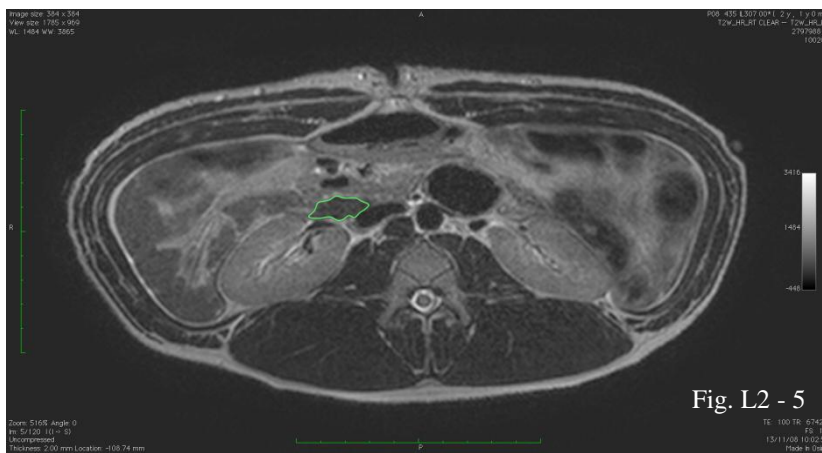
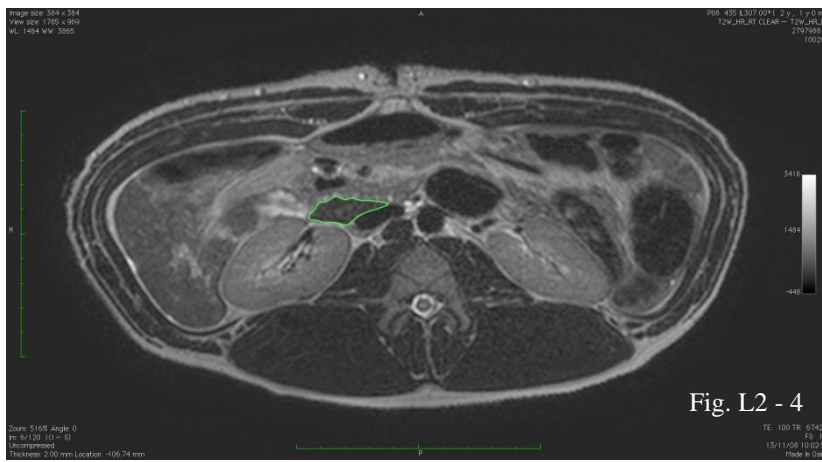
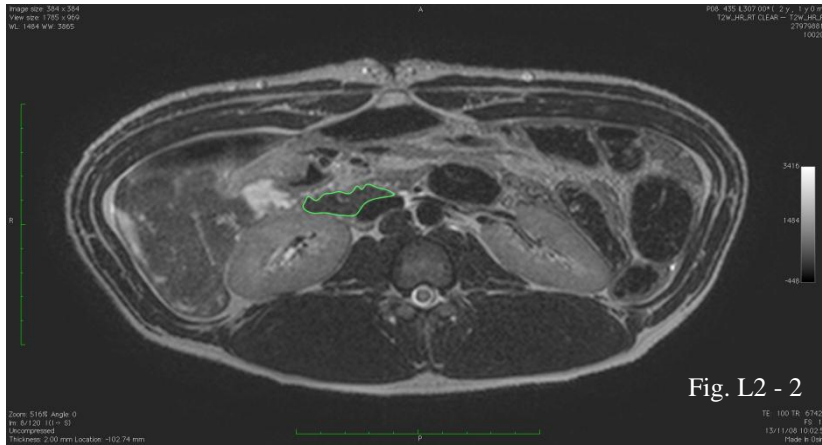












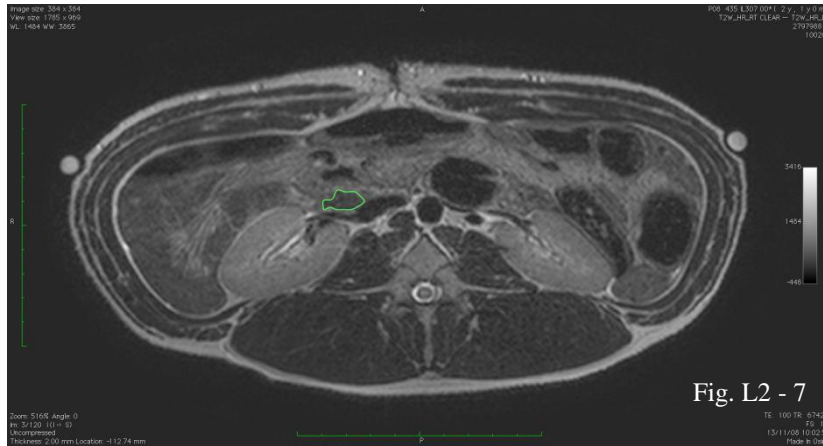


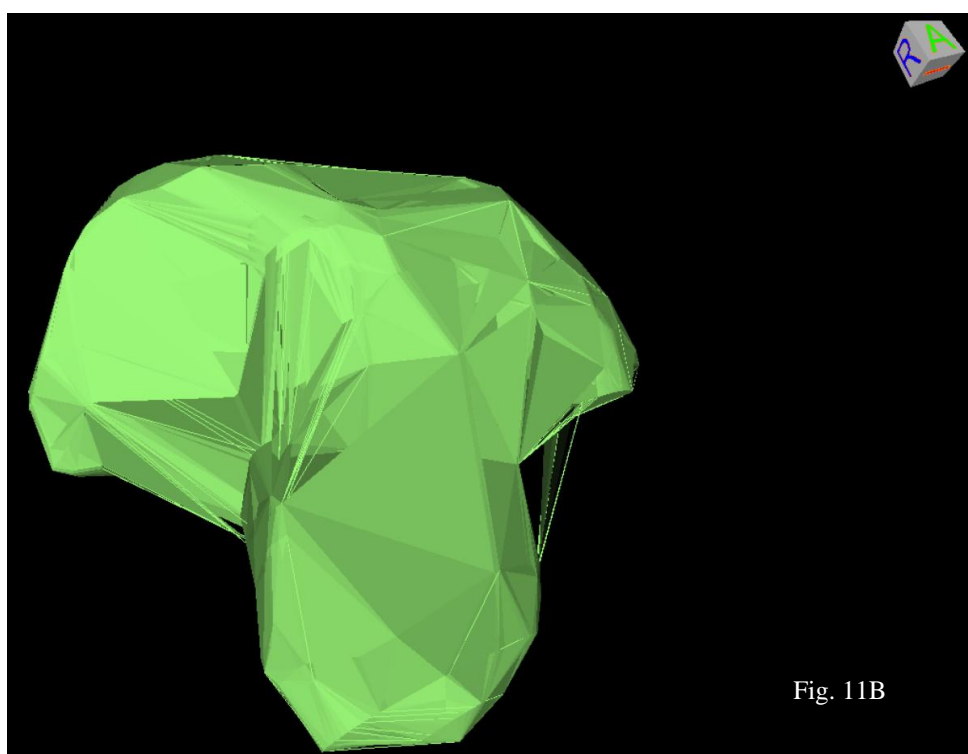
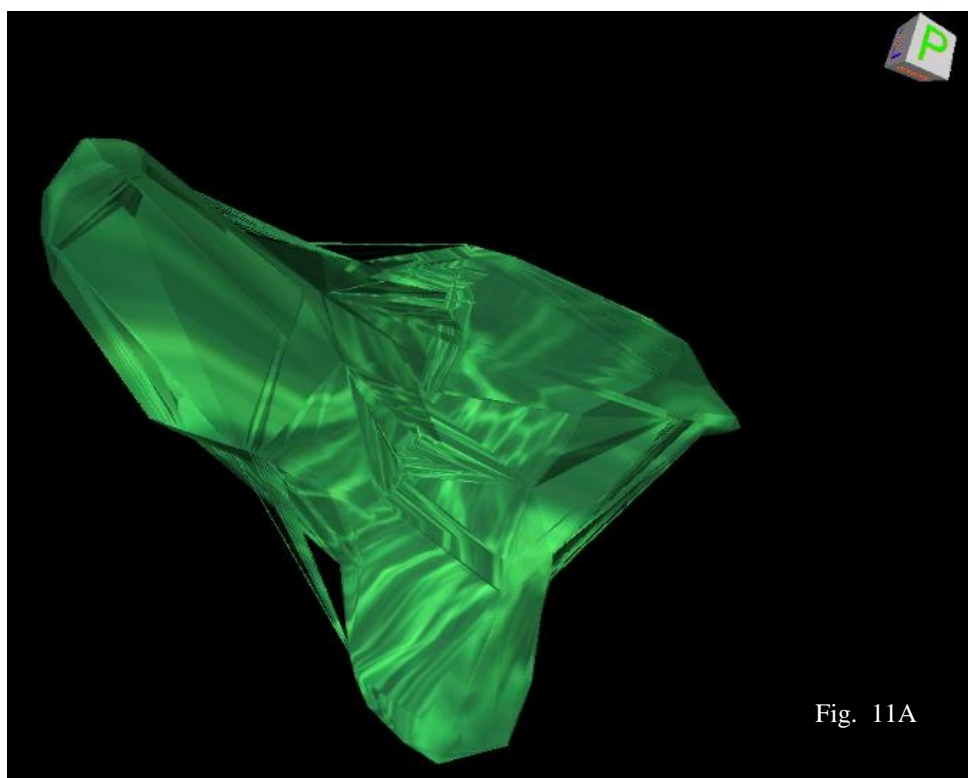
Fig. L2 - 7



Fig. L2 - 8

<b>VOLUMEN TOTAL DE PÁNCREAS EN DISTINTOS CERDOS</b>	
<b>CERDO</b>	<b>VOLUMEN (cm<sup>3</sup>)</b>
1	63,3645
2	48,7801
3	48,8548
4	56,8576
5	51,7848
6	54,1980

*Tabla de valores del volumen total de páncreas afectado por los cortes de RM por cada animal estudiado.*



**Figura 11:** imágenes correspondientes a la reconstrucción volumétrica del páncreas a través de los cortes de RM **A.** visión dorsal oblicua izquierda **B.** visión ventral oblicua derecha

#### **4.1.2.2** Resultados sobre la topografía del páncreas en imágenes seriadas de RM, y su correlación con secciones plastinadas de abdomen.

En este epígrafe se presentan los resultados relativos a la identificación de estructuras anatómicas en imágenes de resonancia magnética in vivo y su correspondencia con imágenes de secciones anatómicas obtenidas de los mismos animales. Como norma general, por cada nivel vertebral se han obtenido entre cuatro y cinco cortes anatómicos seriados. En la exposición de los resultados, nos referiremos a ellos como tercio craneal (las secciones más craneales), tercio medio (corte central) y tercio caudal (los cortes más caudales). Las caras caudales de estos cortes anatómicos se han empleado para la interpretación de las imágenes de RM que presentan una mayor correlación.

Órganos como el hígado, el estómago, el bazo o las asas intestinales presentan gran variabilidad en su posición, determinando diferencias entre las imágenes macro y las correspondientes a los mismos niveles de corte obtenidas por RM in vivo, a pesar de tratarse de los mismos animales.

En todas las secciones anatómicas la aorta se observa con un aspecto colapsado debido a la presión negativa generada durante el sacrificio de los animales. En todos los cortes la vena cava caudal aparece rodeada por parénquima hepático.

### **Nivel vertebral T13:**

Los cortes más craneales interesan parte de la pared de la vesícula biliar. formación anatómica identificable en todos los cortes que afectan a la decimotercera vértebra torácica. Los dos principales órganos interesados en estos cortes corresponden al hígado y al estómago. La aorta abdominal se topografía retroperitonealmente, en la línea media, muy próxima al cuerpo vertebral y a los pilares del diafragma, de los cuales es el izquierdo el de mayor sección. El espacio porta hepático aparece ocupado por un grupo de 3 ó 4 nódulos linfáticos hepáticos localizados en la línea media, rodeando a la arteria hepática. A su derecha se topografía la vena porta, desprendiendo la rama portal derecha, y el conducto colédoco. En el tercio caudal de la T13 se identifican dos nódulos linfáticos gástricos en relación con el porta hepático.

### **Nivel vertebral T14 (1):**

En este nivel vertebral se interesan los lóbulos hepáticos caudado, lateral y medial derechos, así como el medial izquierdo. La sección del estómago presenta abundantes pliegues en el las zonas del cardias y del antro pilórico. El divertículo del estómago se localiza dorsal, muy próximo al pilar izquierdo del diafragma. En la zona próxima al antro pilórico se advierte el engrosamiento de la submucosa propia del píloro. Existe una relación directa del pilar derecho del diafragma con el omento menor. Los nódulos linfáticos hepáticos rodean a la arteria hepática, mientras que los nódulos linfáticos gástricos lo hacen a los vasos que ocupan la curvatura menor del estómago (vasos gástricos). La vena porta se topografía en posición lateral derecha respecto a la arteria hepática, y el conducto colédoco también se dispone en

posición lateral derecha respecto a la vena porta. Alrededor del conducto hepático se advierte parénquima pancreático.

#### **Nivel vertebral T14(2):**

Entre los lóbulos hepáticos mediales derecho e izquierdo se dispone la vesícula biliar, ofreciendo un menor diámetro que en secciones craneales.

El estómago manifiesta la sección correspondiente al divertículo en posición dorsal, hacia el pilar izquierdo del diafragma. En su mitad ventral proyecta hacia la línea media el inicio del antro pilórico. En la curvatura mayor se advierte la presencia de los vasos gastroepiploicos.

Los nódulos gástricos localizados en la curvatura menor del estómago rodean a los vasos gástricos. Por su parte, Los nódulos linfáticos hepáticos se mantienen circundando la arteria hepática, y más desplazados lateralmente hacia derecha se proyecta en primer lugar la vena porta y a continuación el conducto colédoco.

La sección del parénquima pancreático que rodea al conducto colédoco, aumenta respecto a las secciones más craneales analizadas.

#### **Nivel vertebral T14 (3):**

A este nivel, la sección del páncreas ocupa buena parte de la cara visceral del hígado. El páncreas rodea centralmente a la porta y se relaciona directamente con los nódulos linfáticos hepáticos.

La vesícula biliar se ve afectada en este corte pero solo su pared, siendo el corte más caudal en la proyección de esta estructura.

El estómago ofrece una luz independiente para el divertículo en la zona más dorsal del fundus. En el antro pilórico se configura la luz del píloro y su continuidad hacia el duodeno craneal. En esta zona aparecen engrosamientos de la pared del estómago, coincidentes con el píloro. En relación con la curvatura mayor, destacar a este nivel de corte la presencia del bazo.

En el porta hepático referir la desaparición de la sección transversal del conducto colédoco, que ahora aparece en sección longitudinal, hacia la primera porción del duodeno.

Se mantiene la relación del pilar derecho del diafragma con la curvatura menor del estómago, donde se localizan los nódulos linfáticos gástricos así como los vasos gástricos.

#### **Nivel vertebral T14 (4):**

A este nivel, la sección de hígado afecta principalmente al lóbulo lateral derecho y a parte del lóbulo medial izquierdo.

El estómago sigue ofreciendo la sección del divertículo, así como las secciones longitudinales del antro pilórico y del píloro. También se aprecia la elevación en el lumen del píloro, correspondiente al torus pilórico. En relación con la cara visceral del hígado se interesa la luz del duodeno craneal y de los primeros centímetros de duodeno descendente, separadas ambas porciones

por la flexura duodenal craneal. En la luz del duodeno craneal se identifica la papila duodenal mayor, muy próxima al torus pilórico.

Rodeado por las dos porciones de duodeno descritas se topografía el páncreas. En su extensión hacia la línea media cubre dorsalmente a la vena porta y a la arteria hepática, así como a los nódulos linfáticos hepáticos.

La sección del bazo, en relación a la curvatura mayor del estómago, aumenta de tamaño en los cortes más caudales.

#### **Nivel vertebral T14 (5):**

La sección del bazo se extiende dorsalmente hasta alcanzar la sección del divertículo del estómago y la sección del pilar izquierdo del diafragma.

#### **Nivel vertebral T15 (1):**

A este nivel, los lóbulos hepáticos que se inciden son el caudado, ocupado por la vena cava caudal, y los mediales derecho e izquierdo

El estómago en zona del fundus reduce en gran medida la sección, al igual que lo hace en la zona de cuerpo próxima al antro pilórico.

El bazo aumenta en sección, proyectándose desde la extremidad dorsal en contacto con el lóbulo izquierdo del páncreas, a la extremidad ventral en relación con el estómago y las asas intestinales. Estas se topografían en la mitad izquierda, hacia estómago y bazo.



La porción descendente del duodeno se posiciona con un trayecto vertical hacia dorsal, contactando con la cara visceral del hígado. El lóbulo derecho del páncreas se relaciona con el borde mesentérico de esta porción duodenal. El cuerpo rodea ventral y lateralmente a la vena porta, que sigue en relación con el hígado por su cara dorsal. El lóbulo izquierdo contacta dorsalmente con el pilar izquierdo del diafragma y con la extremidad dorsal del bazo. La cara ventral del cuerpo se relaciona con la raíz del mesenterio. En tanto que la cara ventral del lóbulo izquierdo contacta con asas del intestino delgado. A este nivel de corte, extremo craneal de la vértebra T 15, la cara ventral del lóbulo izquierdo del páncreas se observa cubierta por una fascia de coalescencia que lo separa de las asas intestinales. Este hecho se refleja en un espacio amplio entre dicho lóbulo y el intestino delgado. La mayor parte del área ocupada por el páncreas a este nivel de corte corresponde al lóbulo derecho y al cuerpo.

### **Nivel vertebral T15 (2):**

A este nivel vertebral, los lóbulos hepáticos interesados son el caudado, medial derecho y medial izquierdo. La porción descendente del duodeno se advierte en contacto con cara visceral del hígado. Por su parte, la sección del estómago aparece solo en la zona izquierda, ventral a la cara parietal del bazo.

Las asas de intestino delgado ocupan la mitad dorsal izquierda del abdomen y se relacionan con la cara visceral del bazo, donde se identifican los vasos esplénicos.

En la línea media, entre duodeno y asas yeyunales, se afecta el colon transverso. Su cara dorsal se topografía sobre el cuerpo del páncreas, así como parte de los lóbulos derecho e izquierdo.

El extremo libre del lóbulo izquierdo del páncreas se relaciona con asas intestinales, mientras el resto de dicho lóbulo y el cuerpo quedan cubiertos por el colon transverso junto con un reflejo de la fascia de coalescencia.

### **Nivel vertebral T15 (3):**

Los lóbulos hepáticos afectados por este corte, más caudal, son el caudado y los mediales derecho e izquierdo.

Persiste el duodeno descendente que mantiene en el mesoduodeno al lóbulo derecho del páncreas. El cuerpo rodea a la vena porta y queda cubierto completamente por el colon transverso. El lóbulo izquierdo en su extremo libre hace prominencia hacia ventral y contacta con el bazo y las asas intestinales. Entre la cara visceral del bazo y la vena porta se afectan vasos, que podrían corresponder a los esplénicos.

### **Nivel vertebral T15(4):**

En relación con el hígado se ven afectados los lóbulos caudado y el medial derecho, principalmente.

El intestino delgado se extiende a la mitad derecha del abdomen, contactando con la cara visceral de los lóbulos hepáticos. De igual forma,

ocupan la mitad izquierda contactando con la cara visceral del bazo. En la zona central, coincidente con la línea media, se topografía el colon transversal que contacta dorsalmente con el cuerpo del páncreas, lateralmente con asas intestinales y en su cara ventral se topografían vasos correspondientes al trayecto del mesenterio.

En relación con la cara visceral del bazo se dispone la flexura cólica izquierda.

El lóbulo derecho del páncreas mantiene su relación con el borde mesentérico del duodeno, que a este nivel su sección se muestra mucho menor que en cortes más caudales. El cuerpo sigue cubriendo a la vena porta, que recibe a la vena esplénica. La mayor parte del área ocupada por el páncreas en este nivel de corte corresponde al lóbulo izquierdo. Su cara dorsal se relaciona con el bazo y los vasos esplénicos. Su cara ventral, cubierta por la fascia de coalescencia, se proyecta de forma convexa hacia cavidad peritoneal.

#### **Nivel vertebral T15(5):**

A este nivel vertebral la sección de hígado es escasa, afectando al lóbulo lateral derecho y al caudado, quien se ve atravesado por la vena cava caudal.

El colon transversal sigue ocupando parte de la sección, en la zona media. El bazo, topografiado en la mitad izquierda, también reduce su área a este nivel de corte.

Las asas de intestino delgado tanto hacia la mitad derecha, en relación con la cara visceral del hígado, como hacia la izquierda en relación con la cara visceral del bazo.

La escasa extensión del lóbulo derecho del páncreas mantiene relación con el duodeno. El cuerpo del páncreas rodea a la vena porta y a la arteria hepática. El lóbulo izquierdo, cubierto por fascia de coalescencia con el peritoneo parietal al igual que el cuerpo y lóbulo derecho busca su extensión lateral hacia la extremidad dorsal del bazo. Su cara ventral se proyecta hacia cavidad peritoneal donde se identifican los vasos yeyunales que integran la raíz del mesenterio.

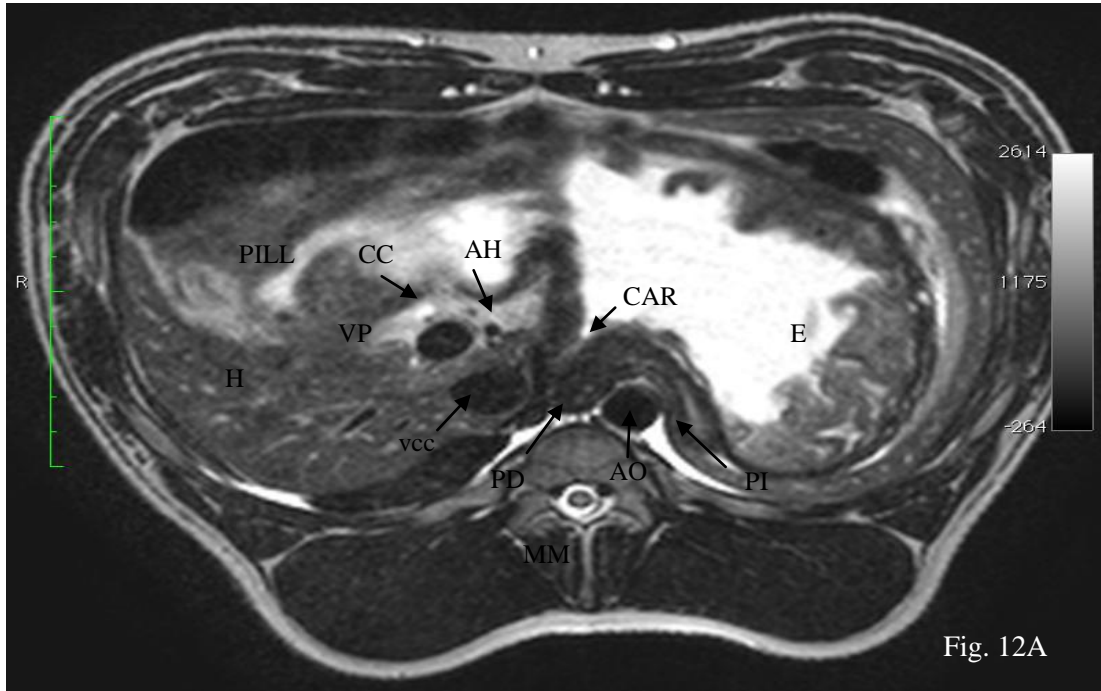


Fig. 12A

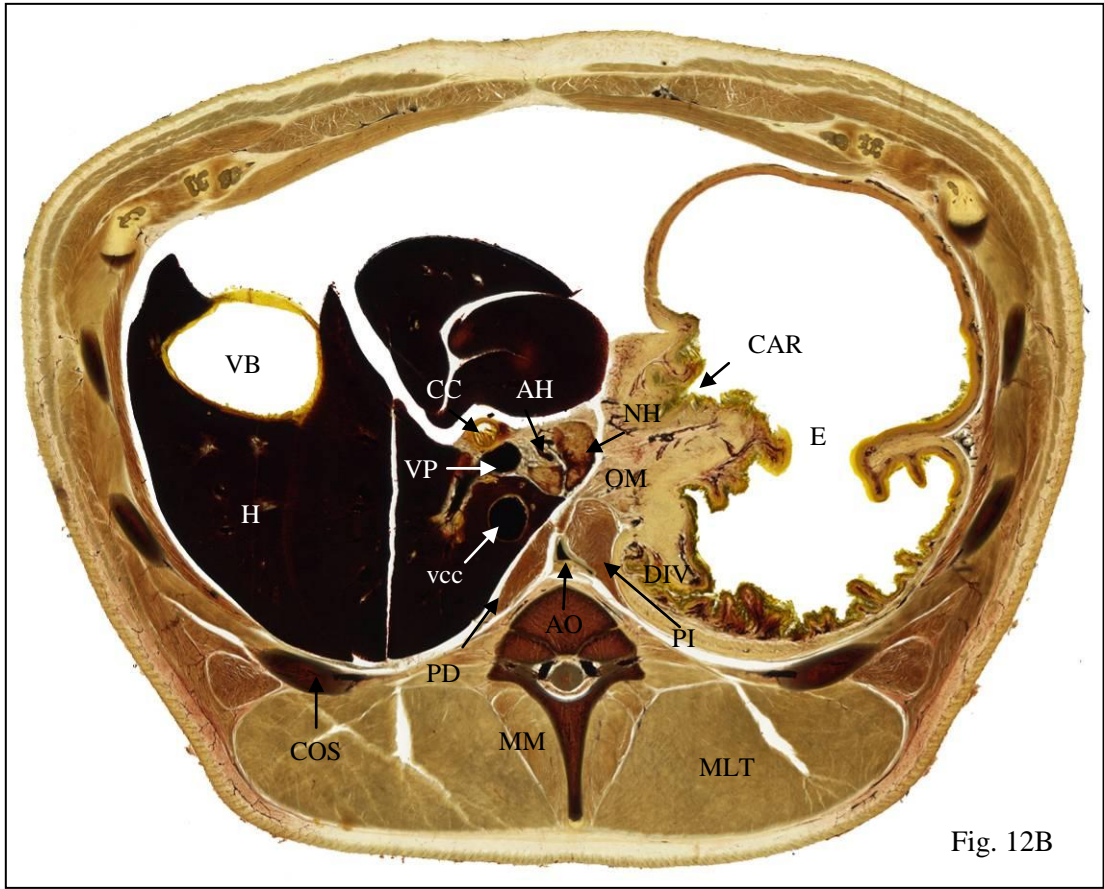
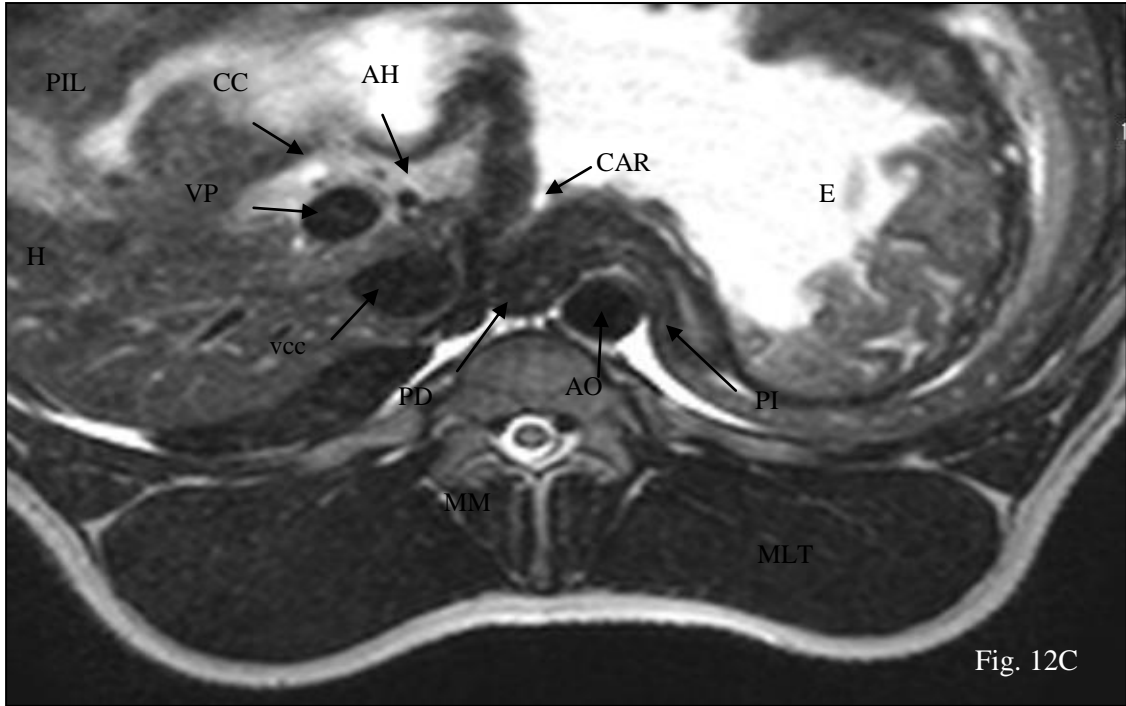
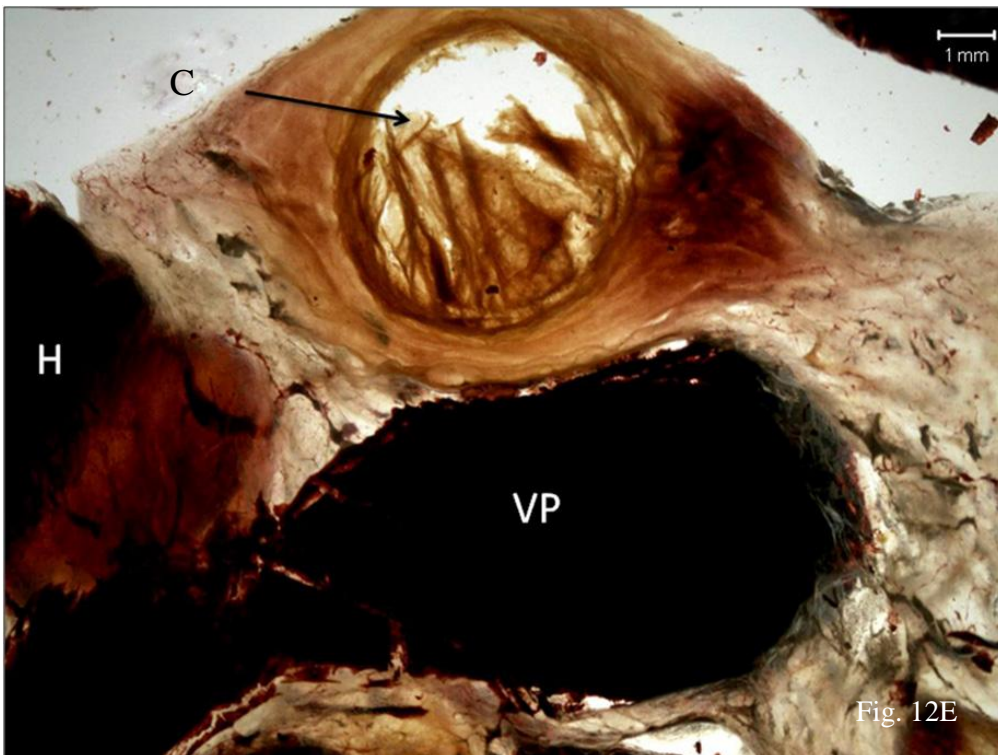
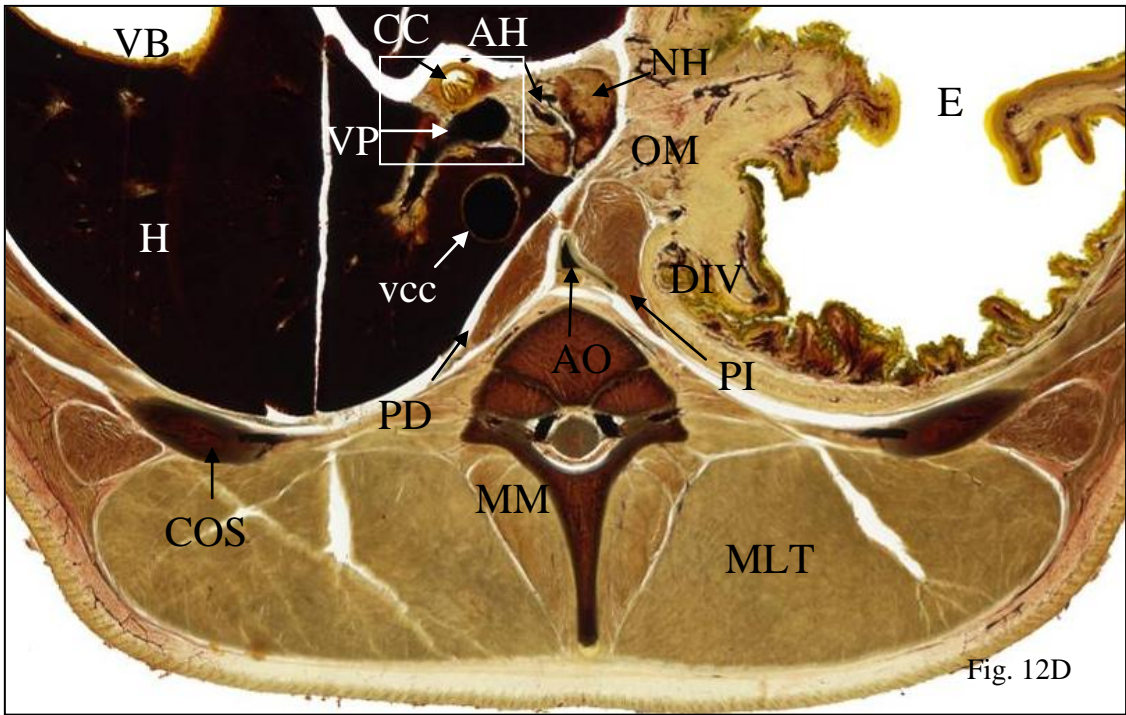


Fig. 12B









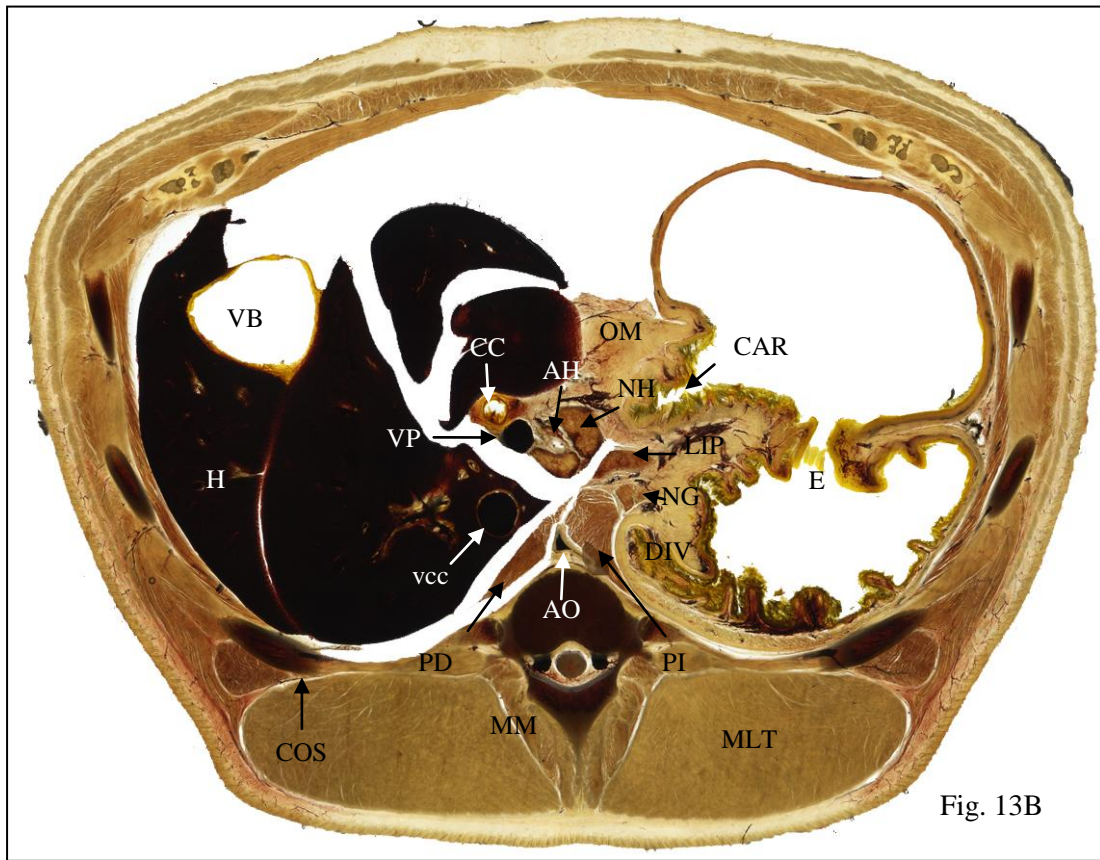


Fig. 13B

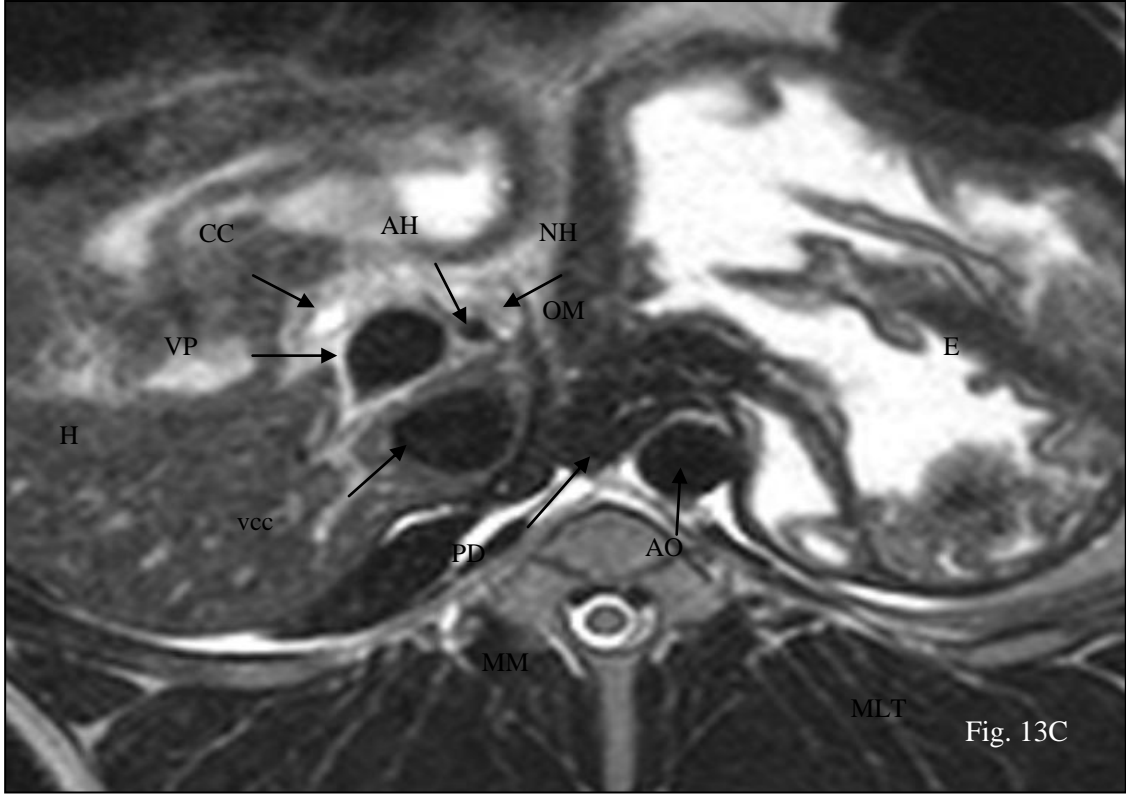


Fig. 13C



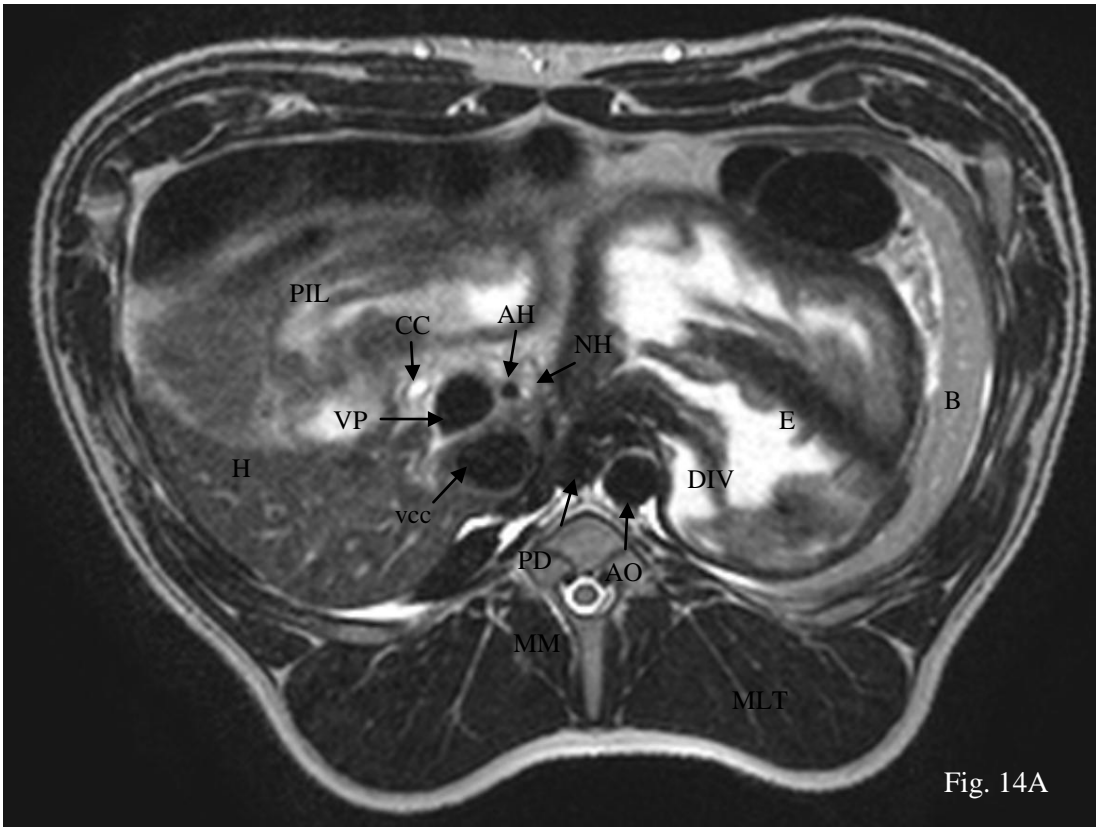


Fig. 14A



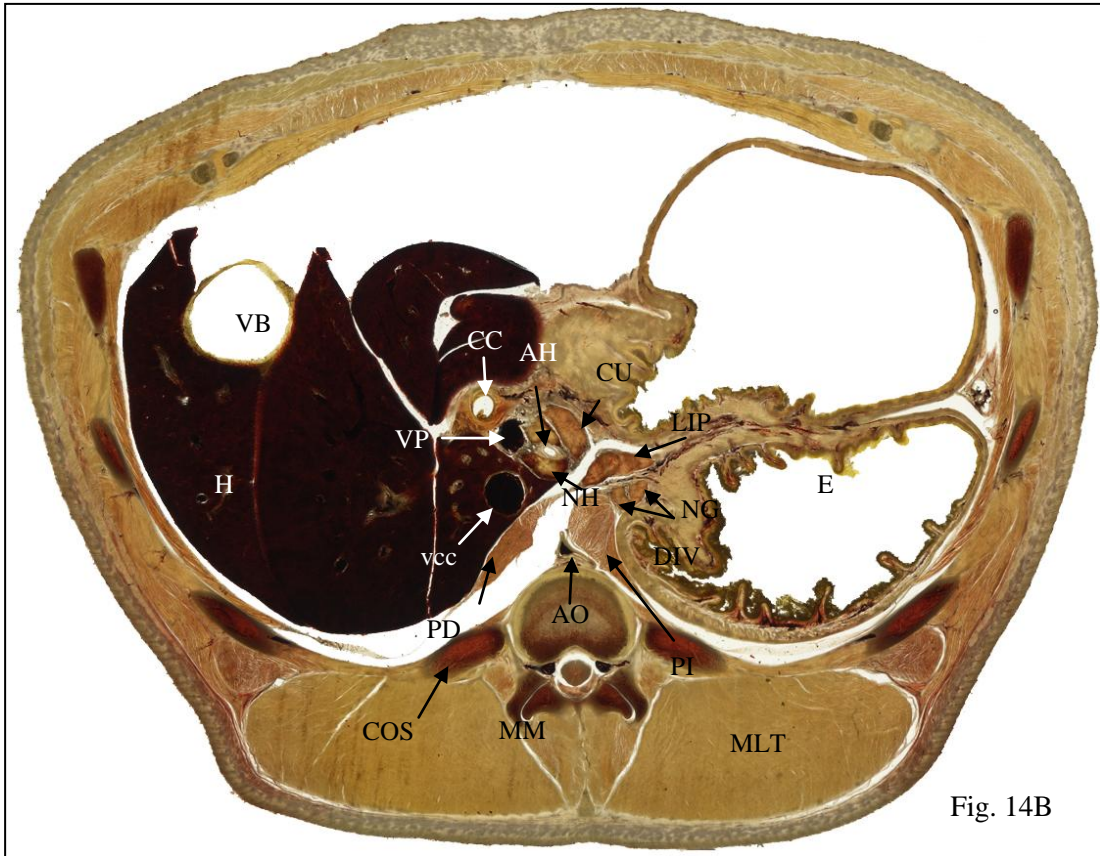
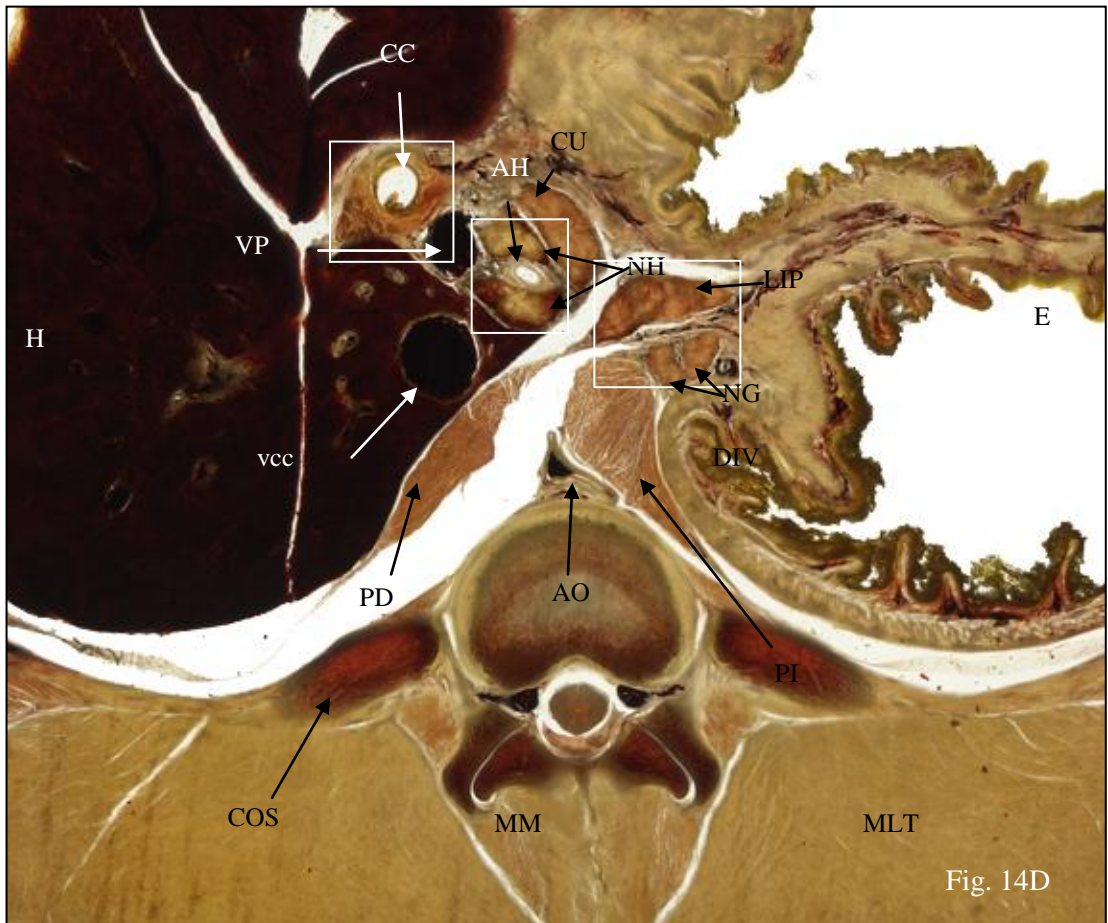
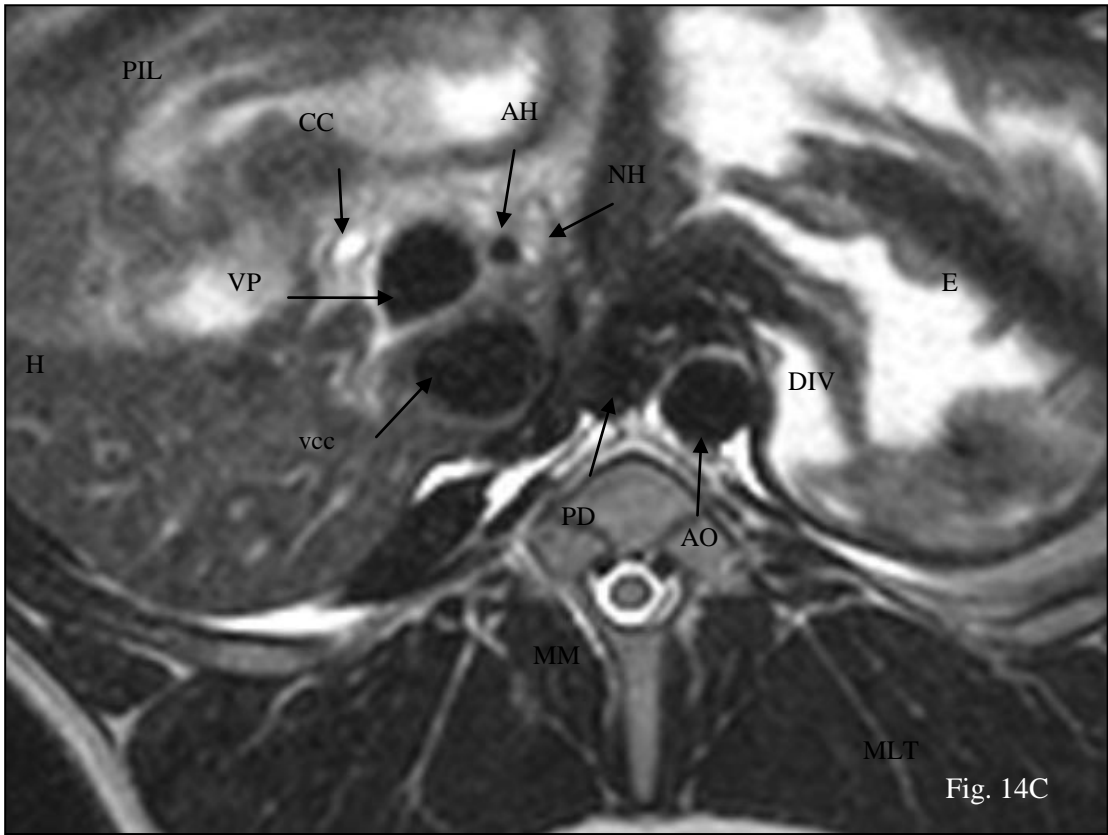


Fig. 14B





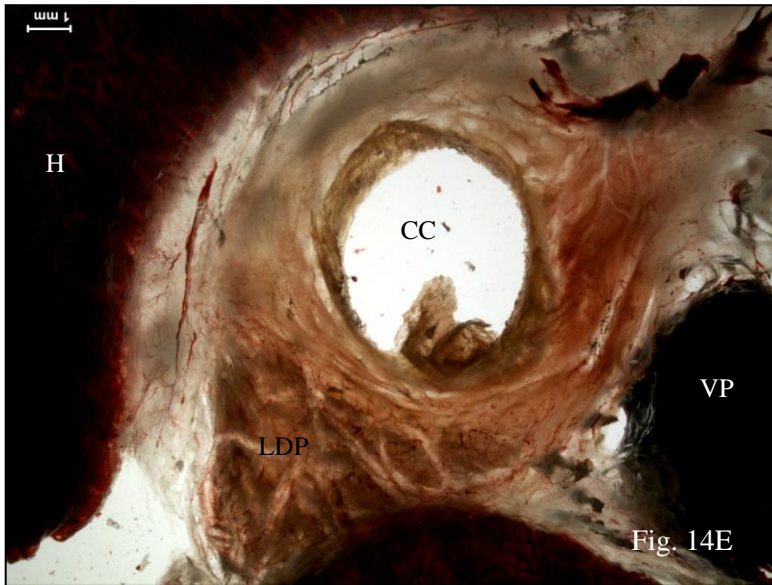


Fig. 14E

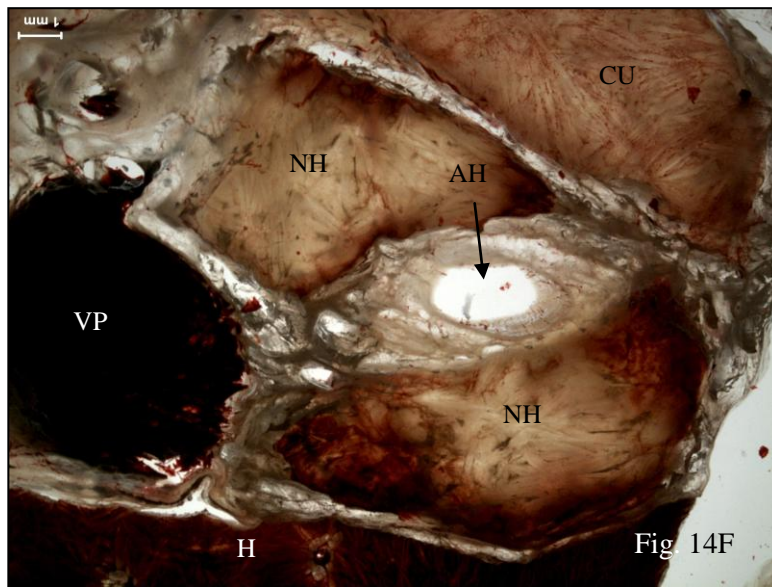


Fig. 14F

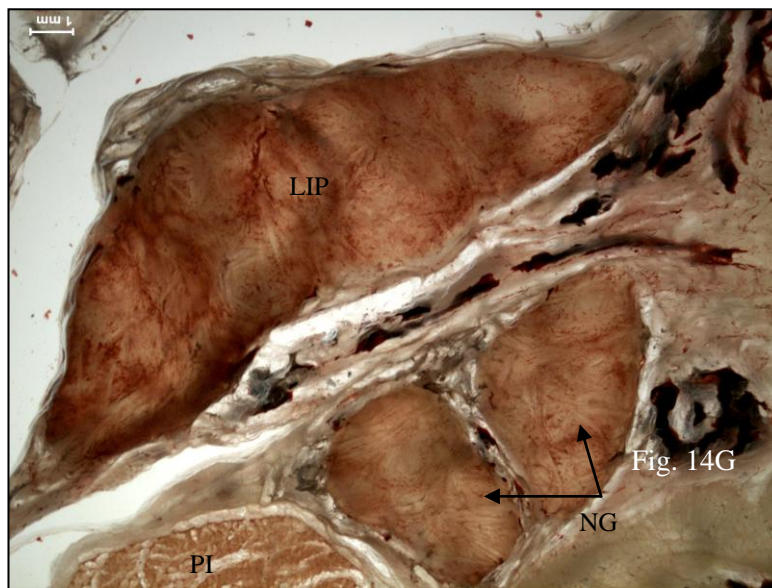


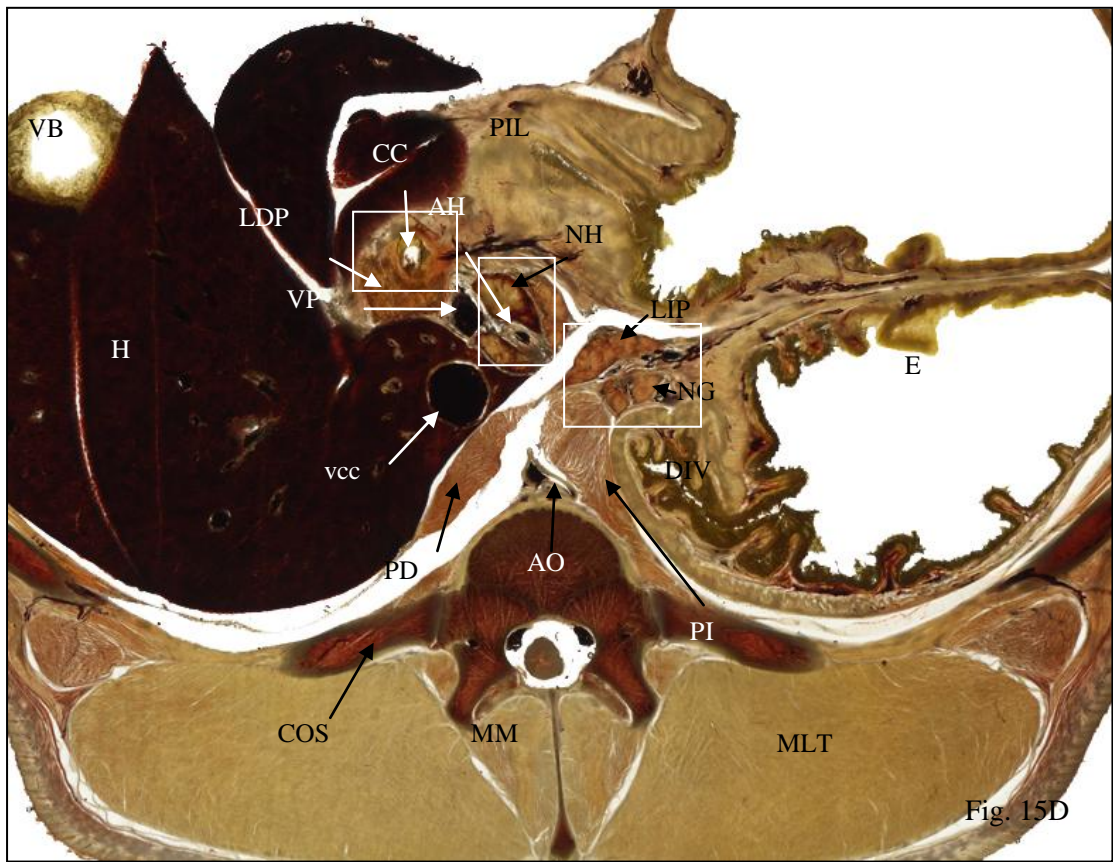
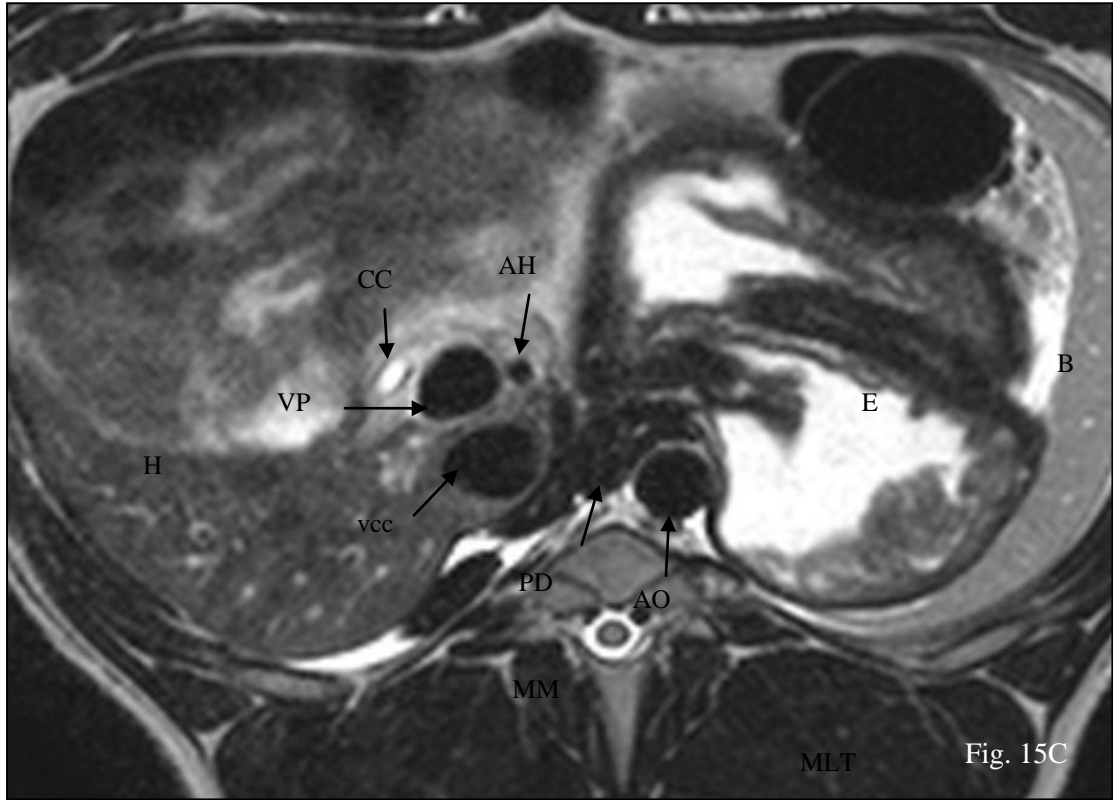
Fig. 14G





Fig. 15A







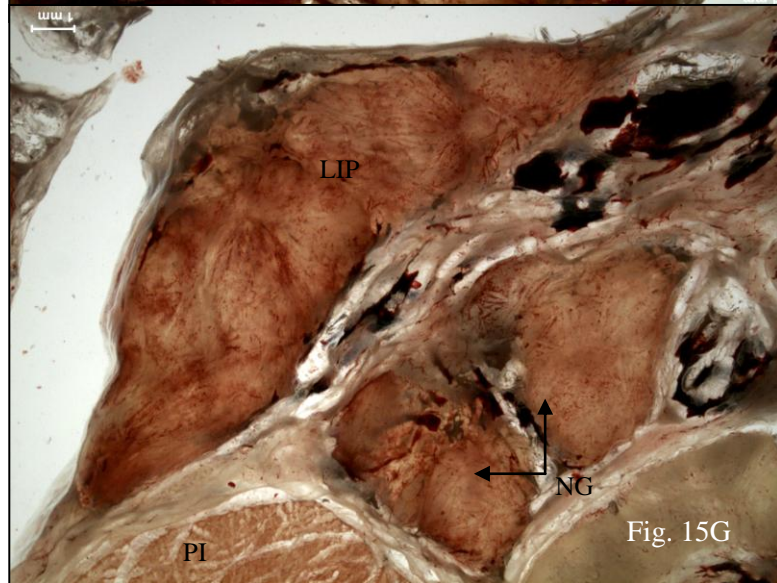
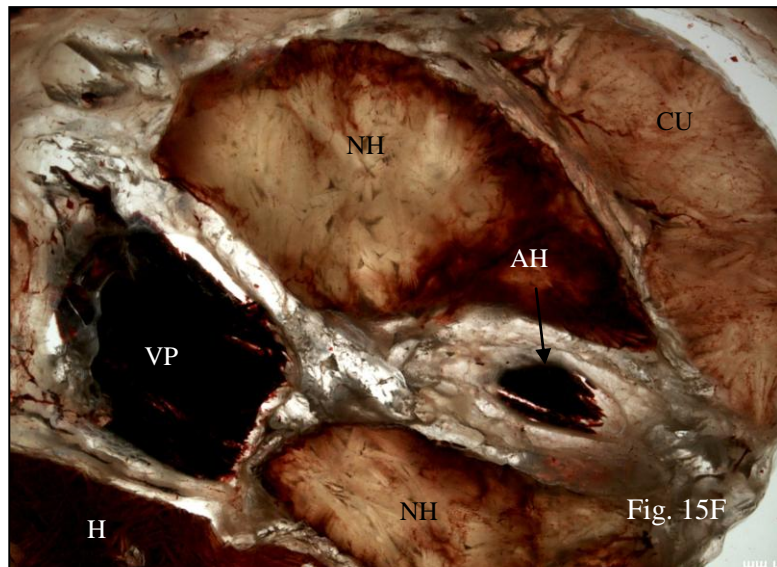
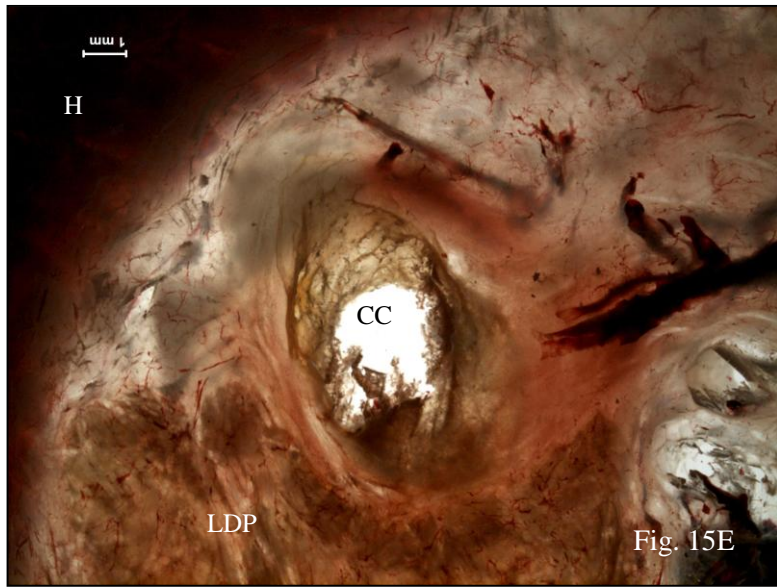




Fig. 16A





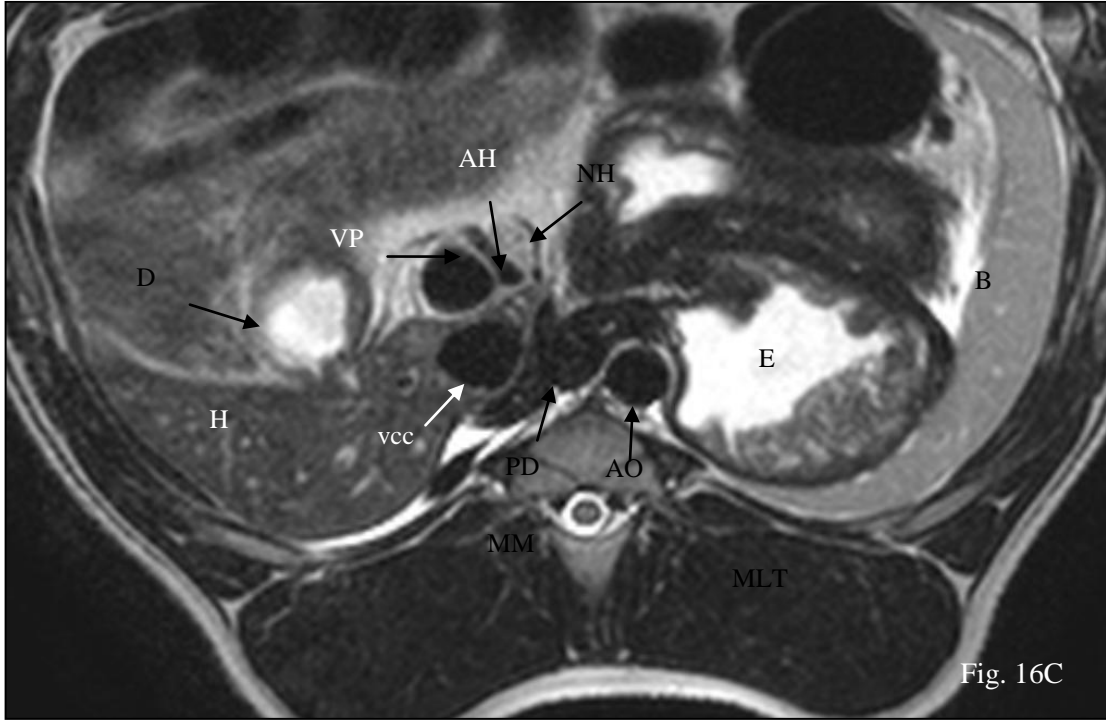


Fig. 16C

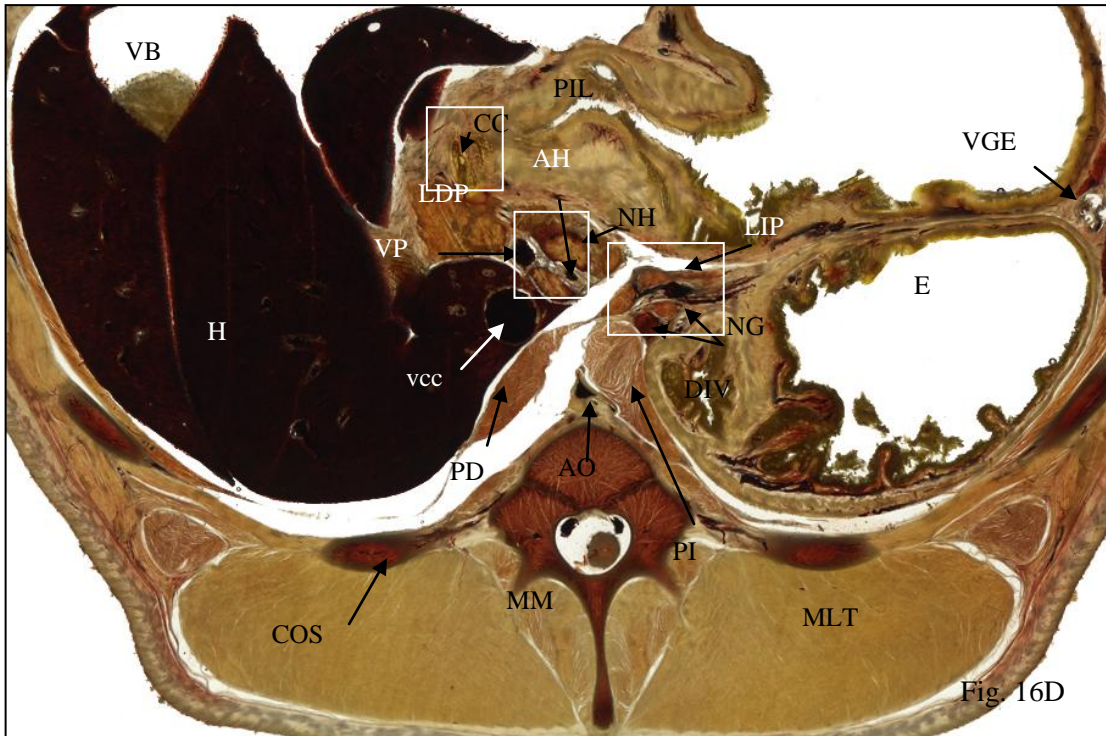
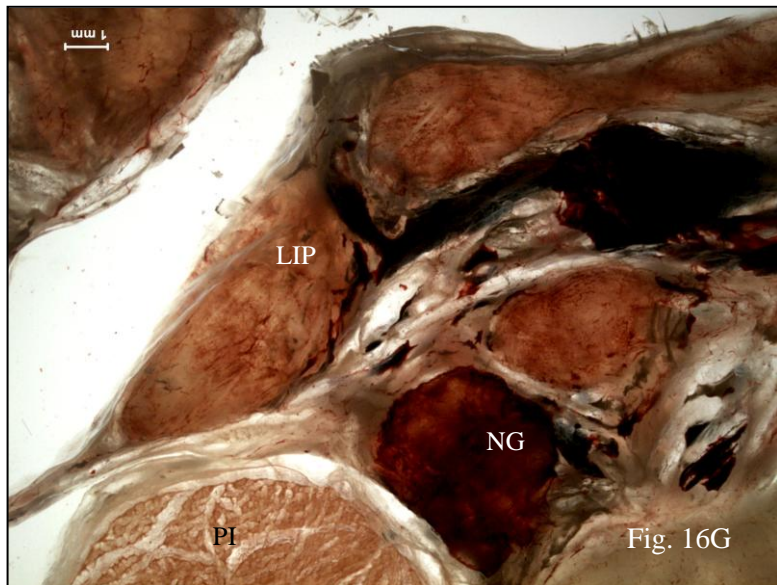
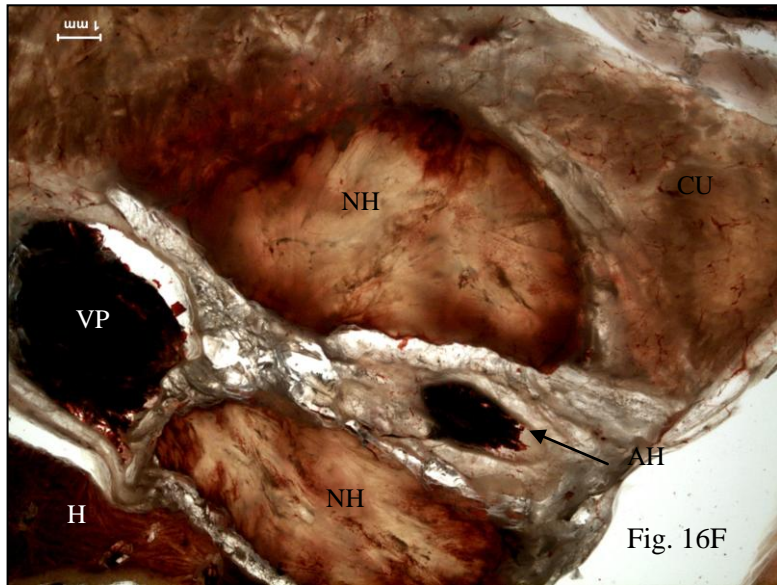
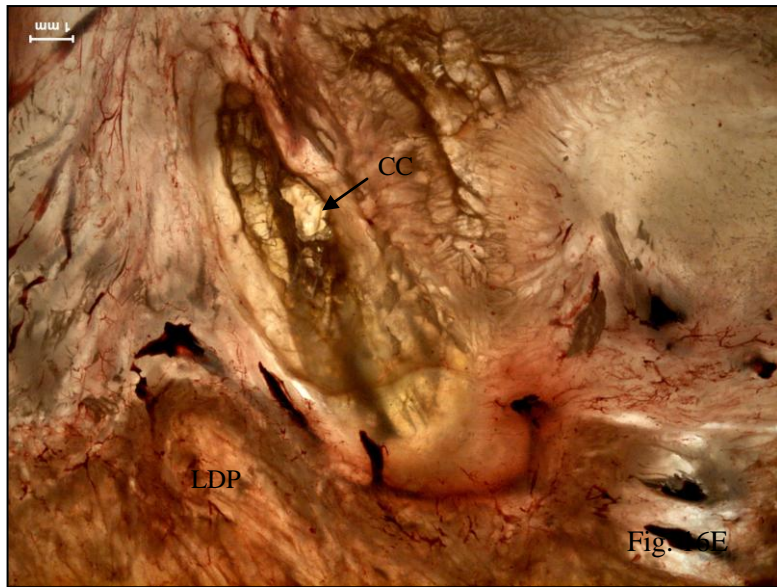
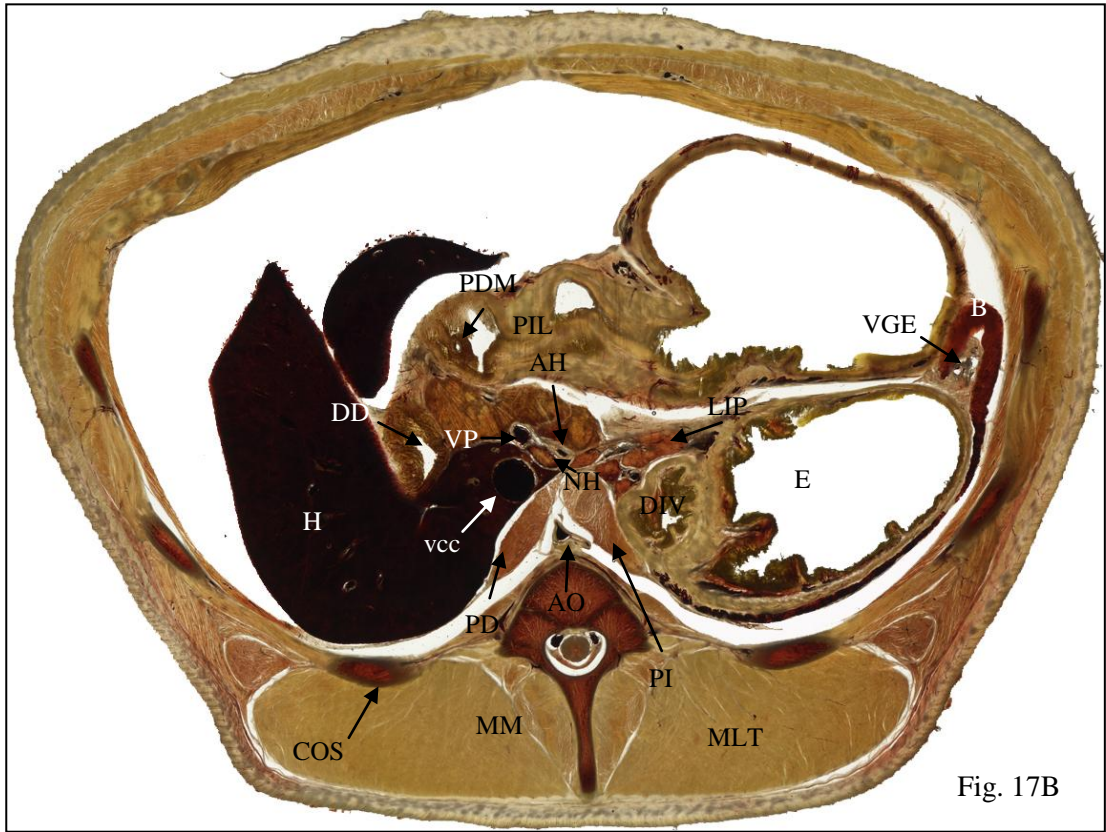


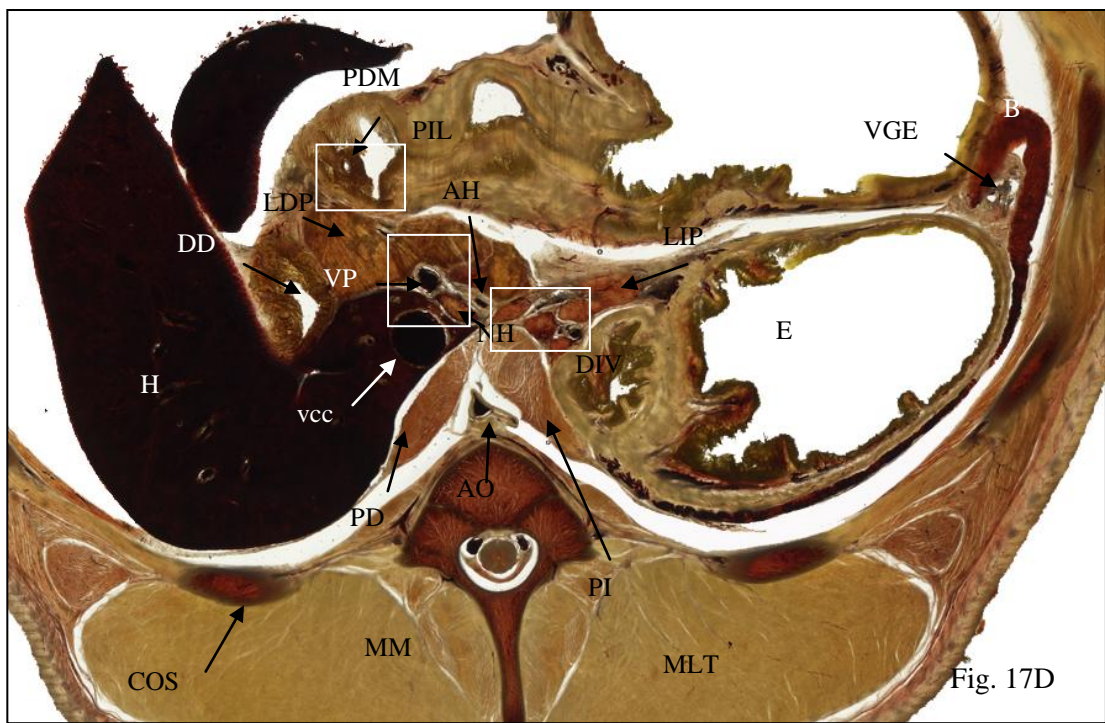
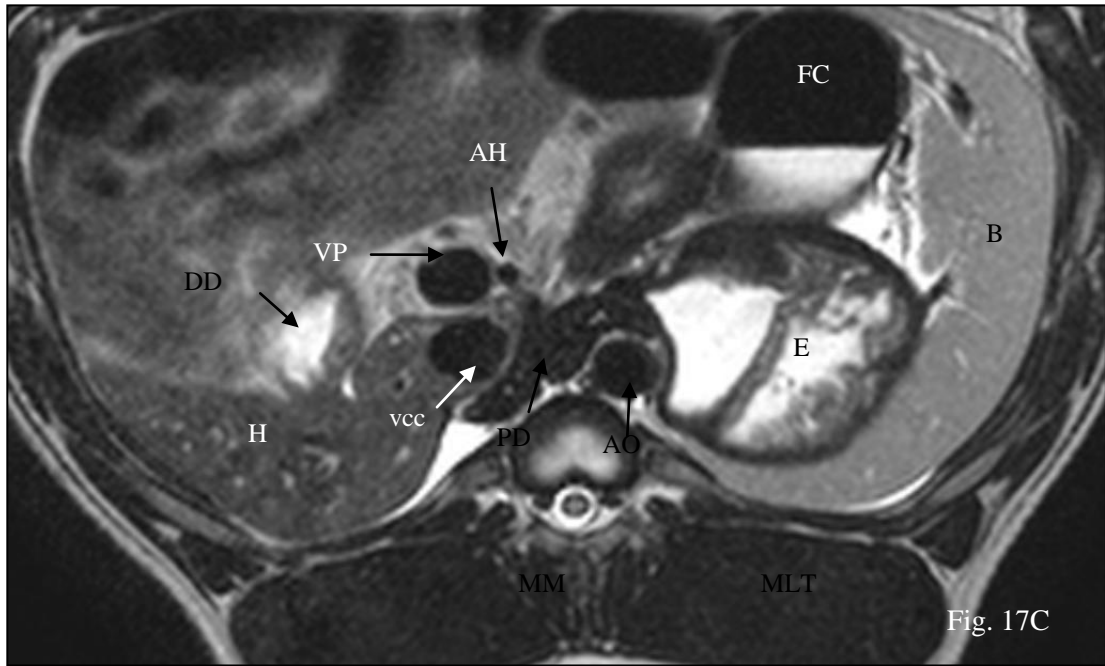
Fig. 16D



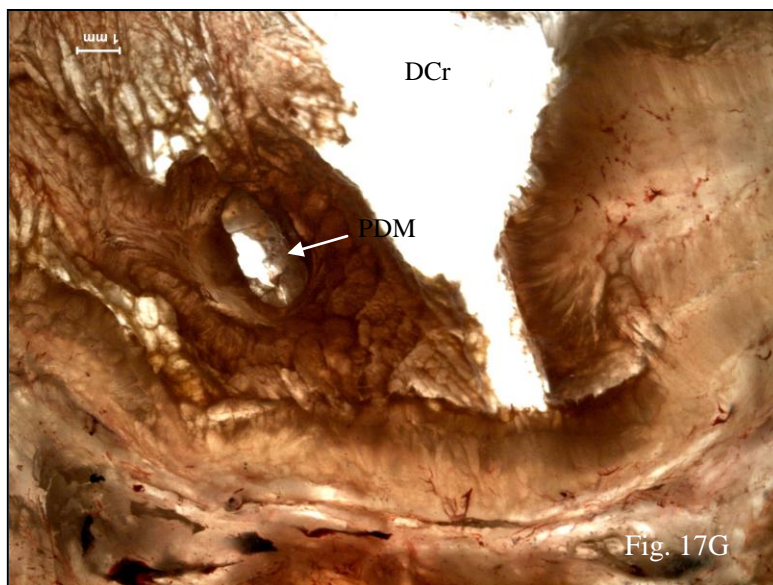
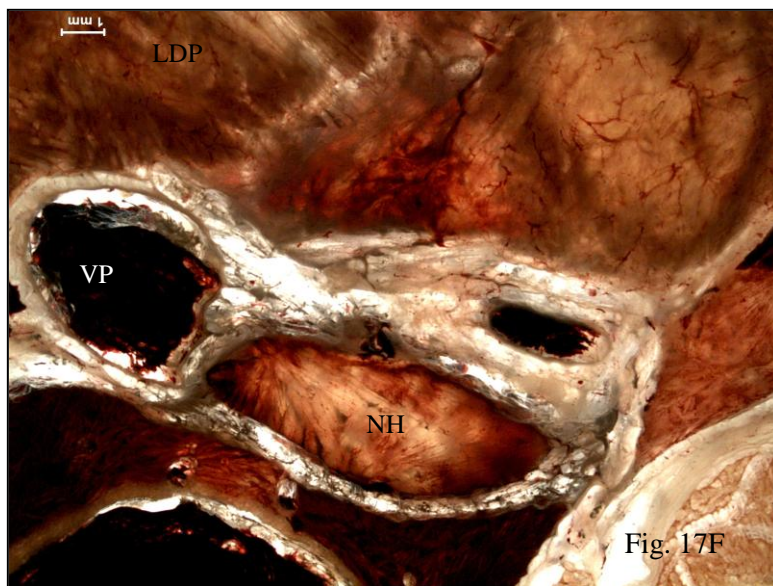
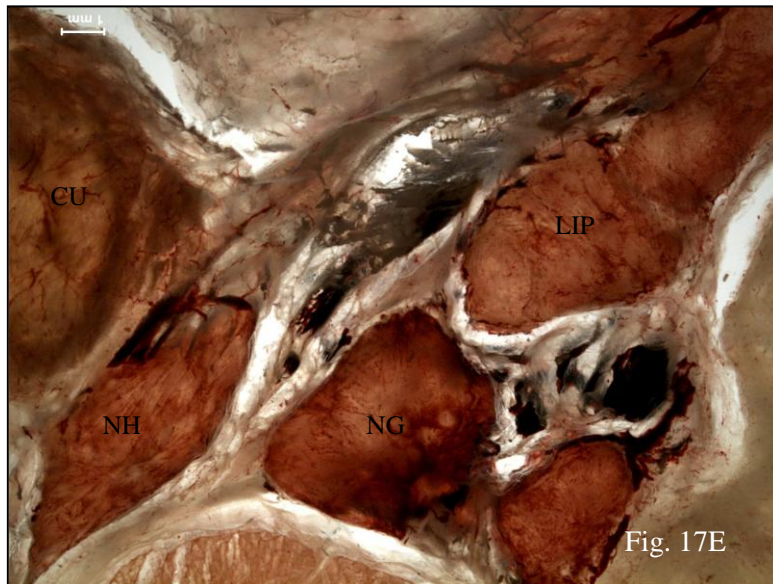




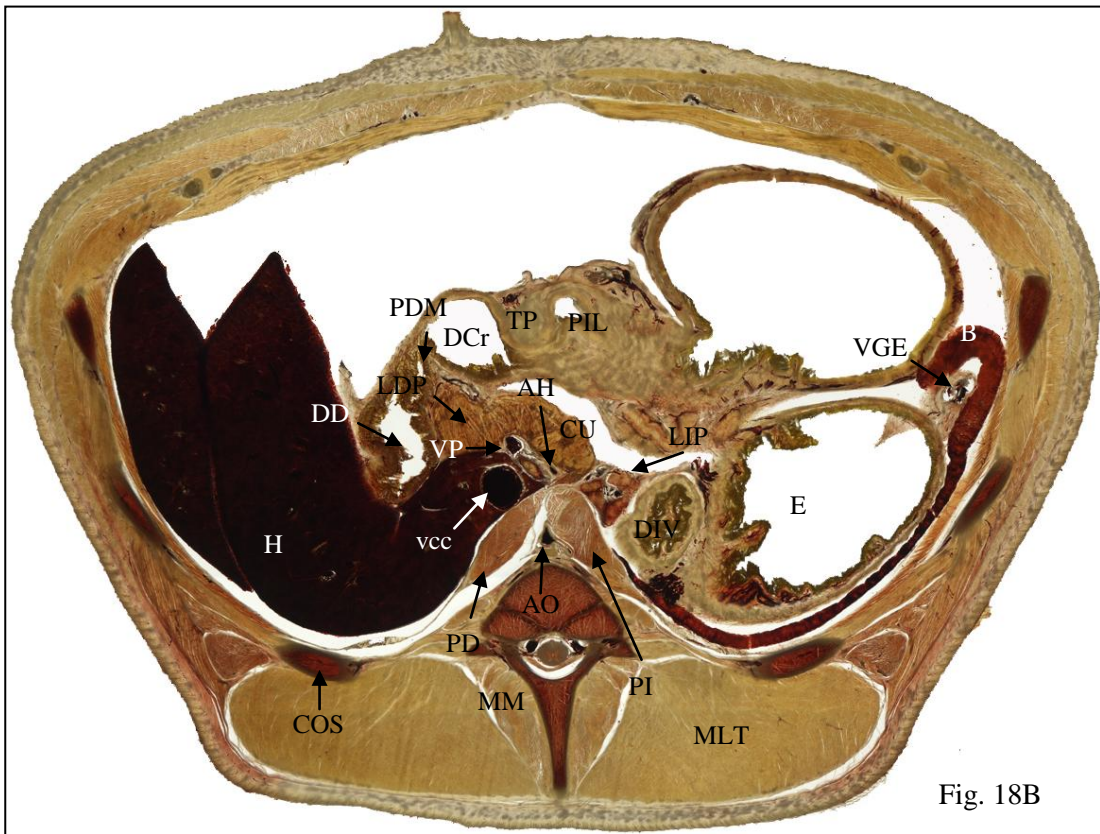


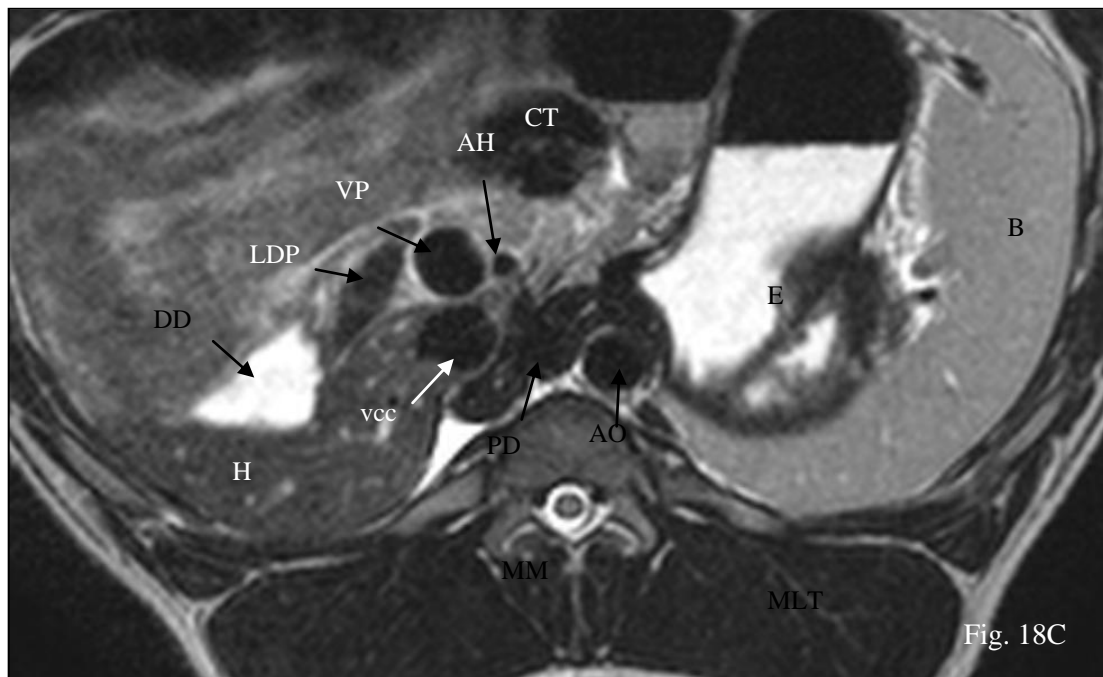




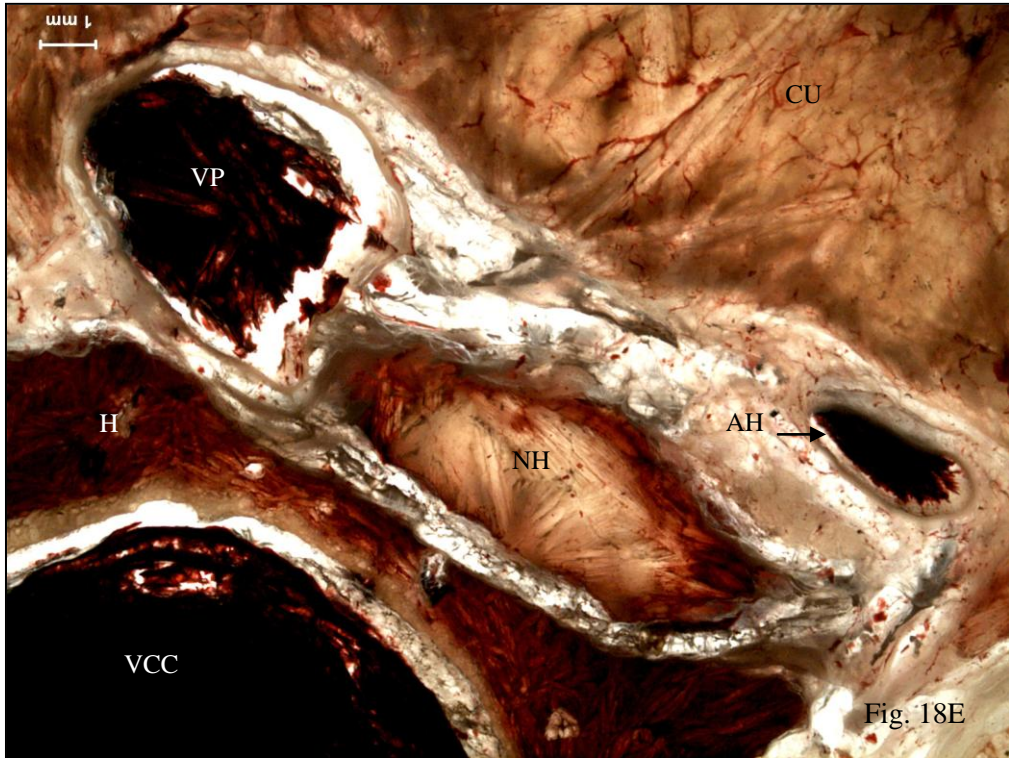
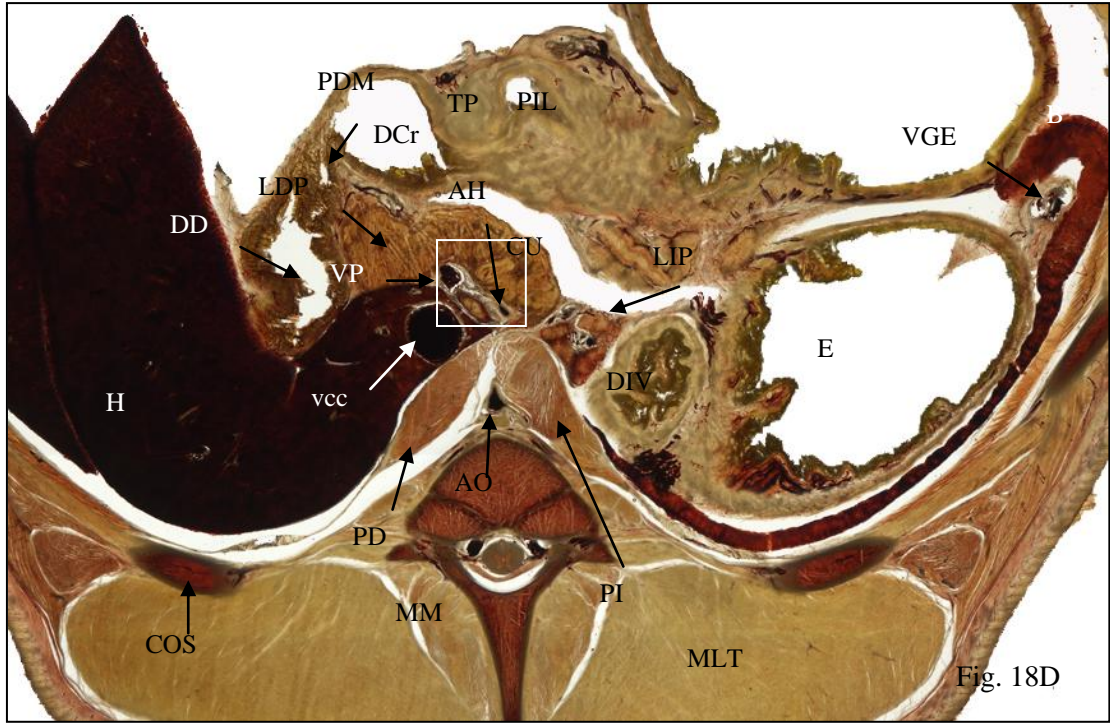












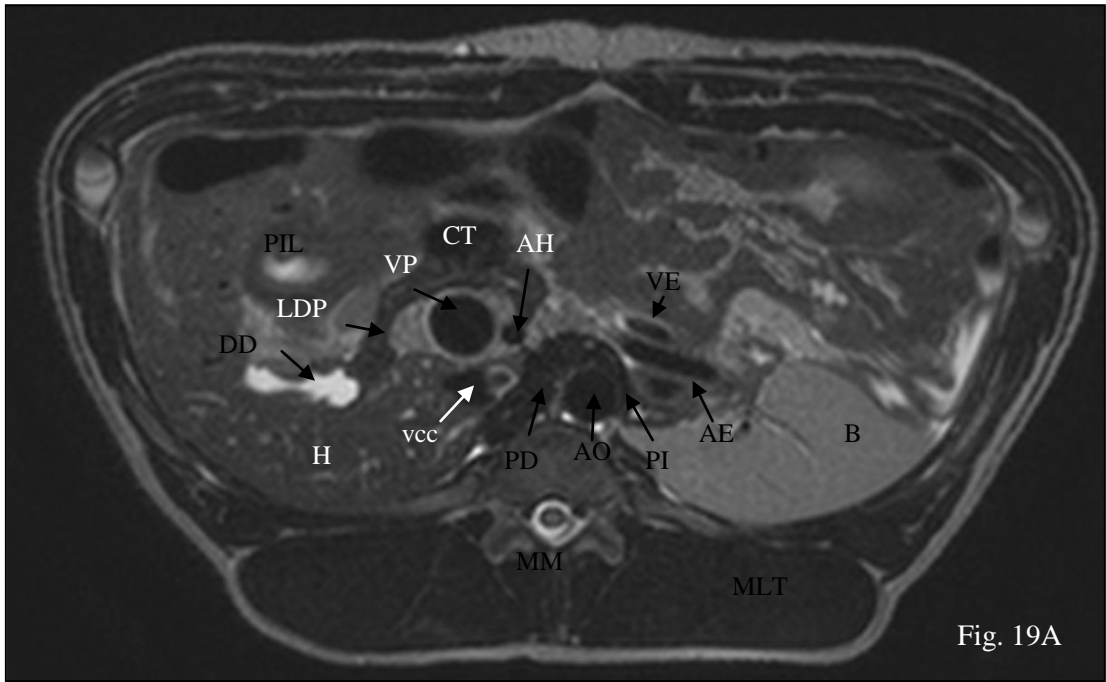


Fig. 19A

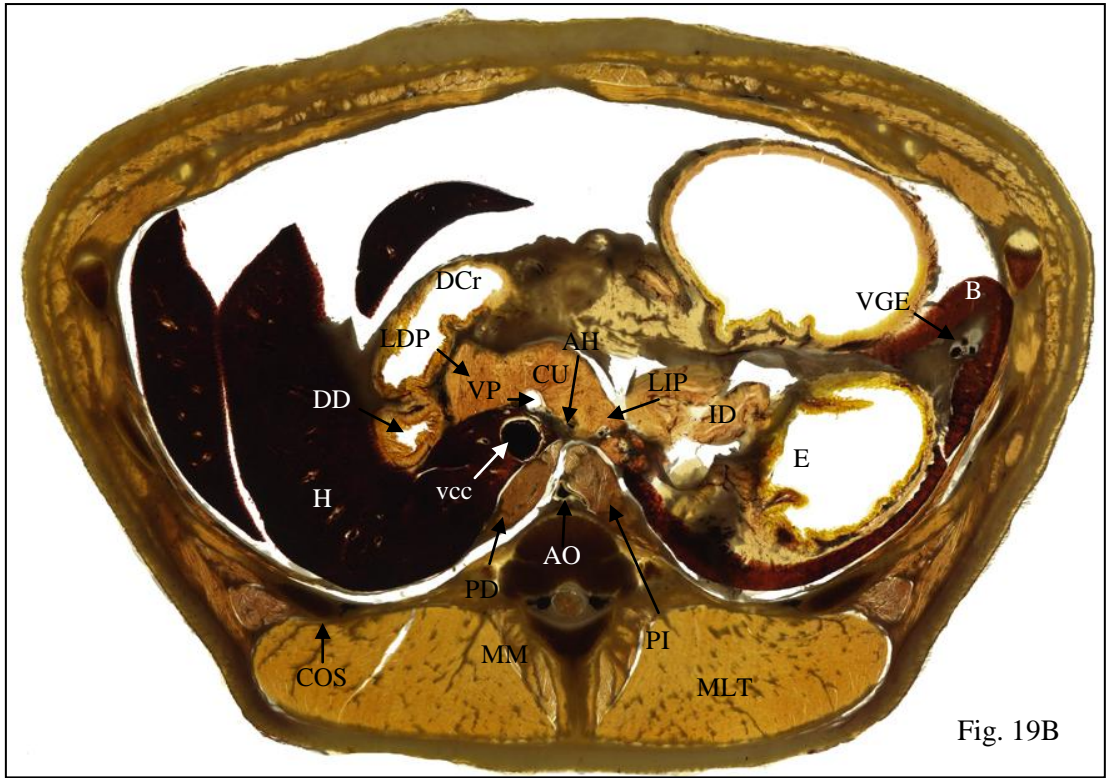
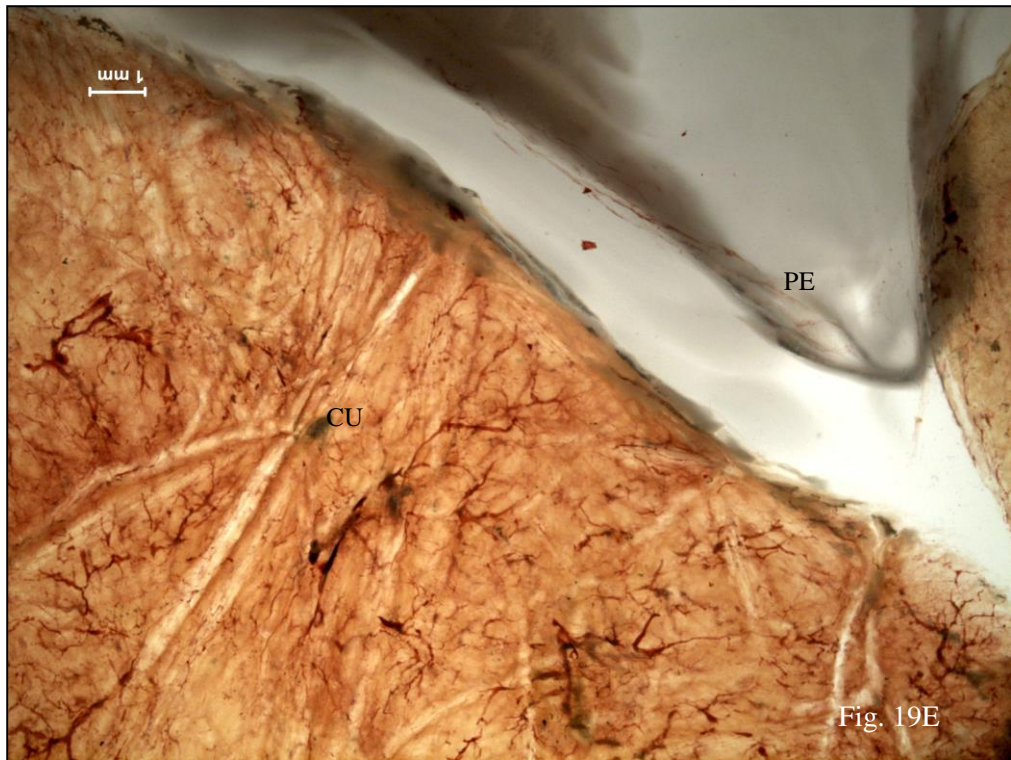
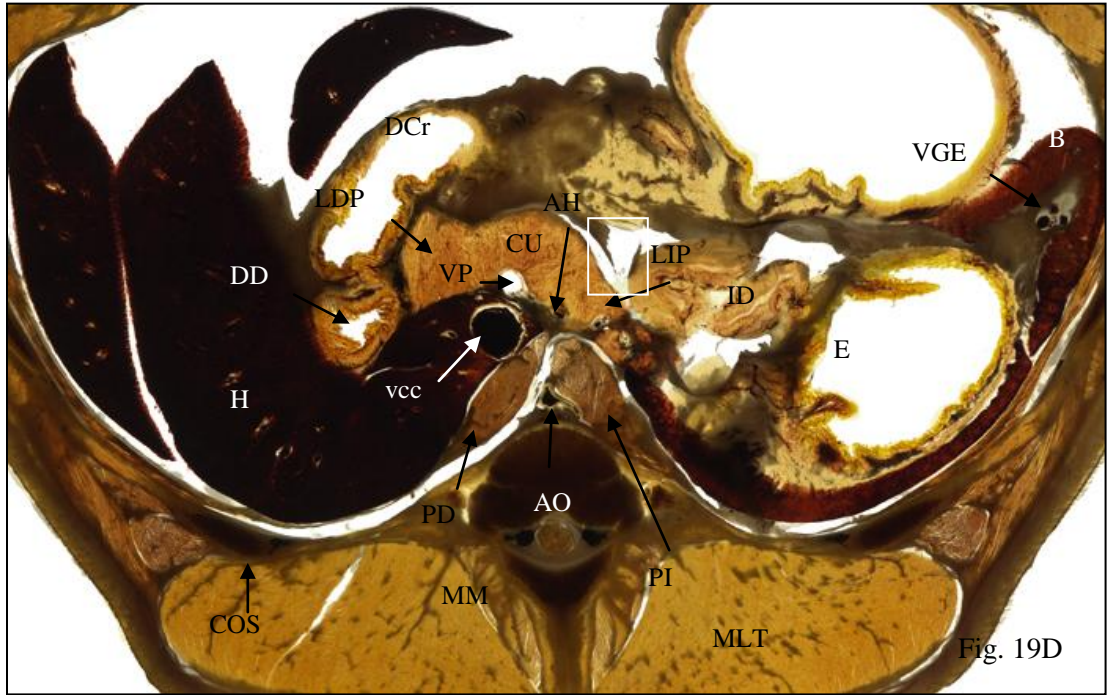


Fig. 19B







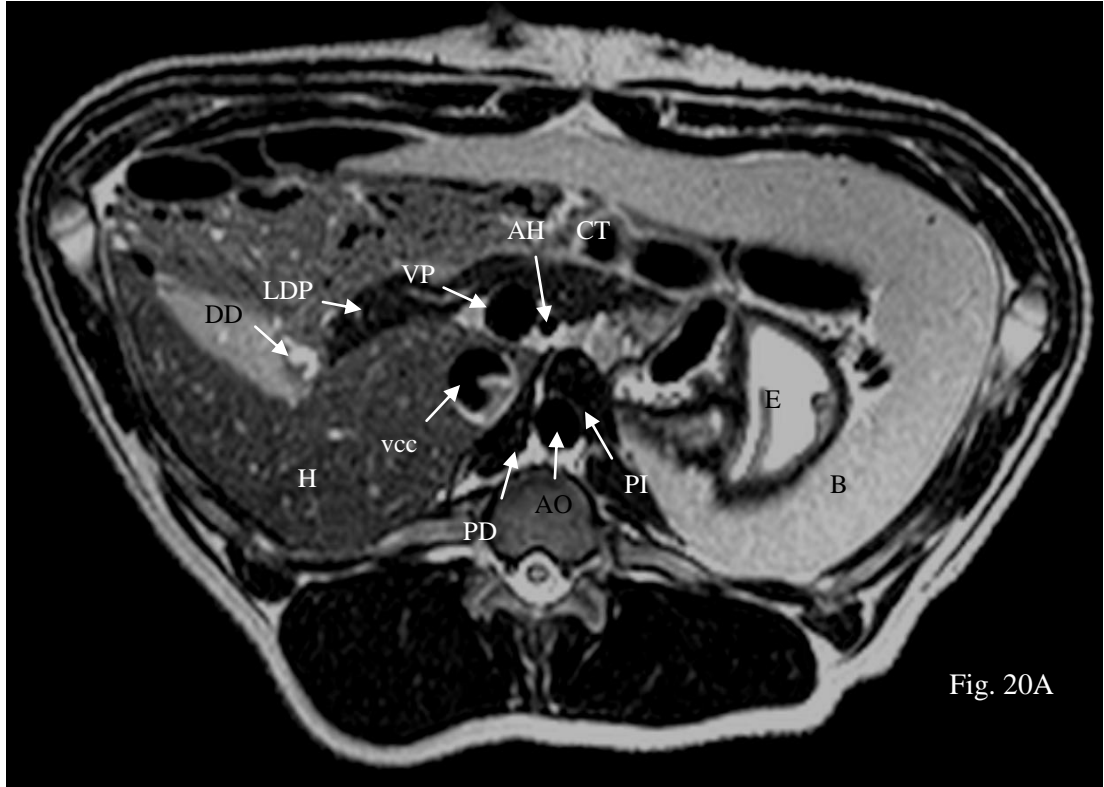


Fig. 20A

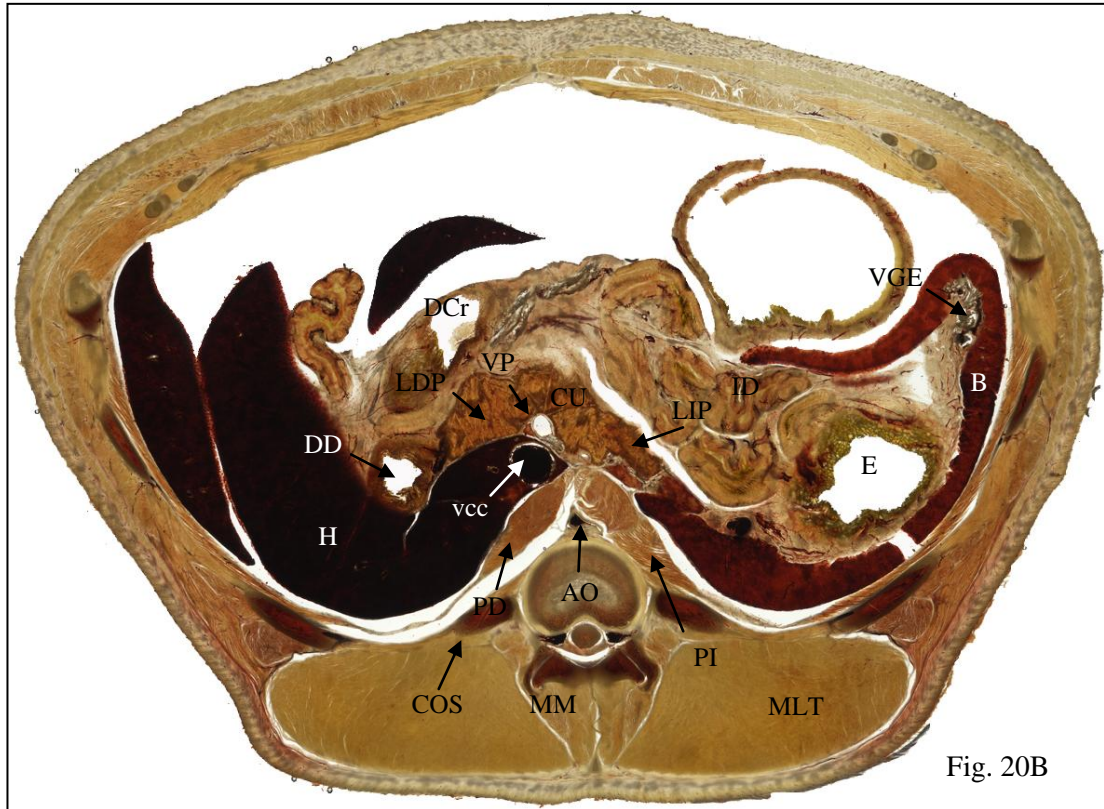
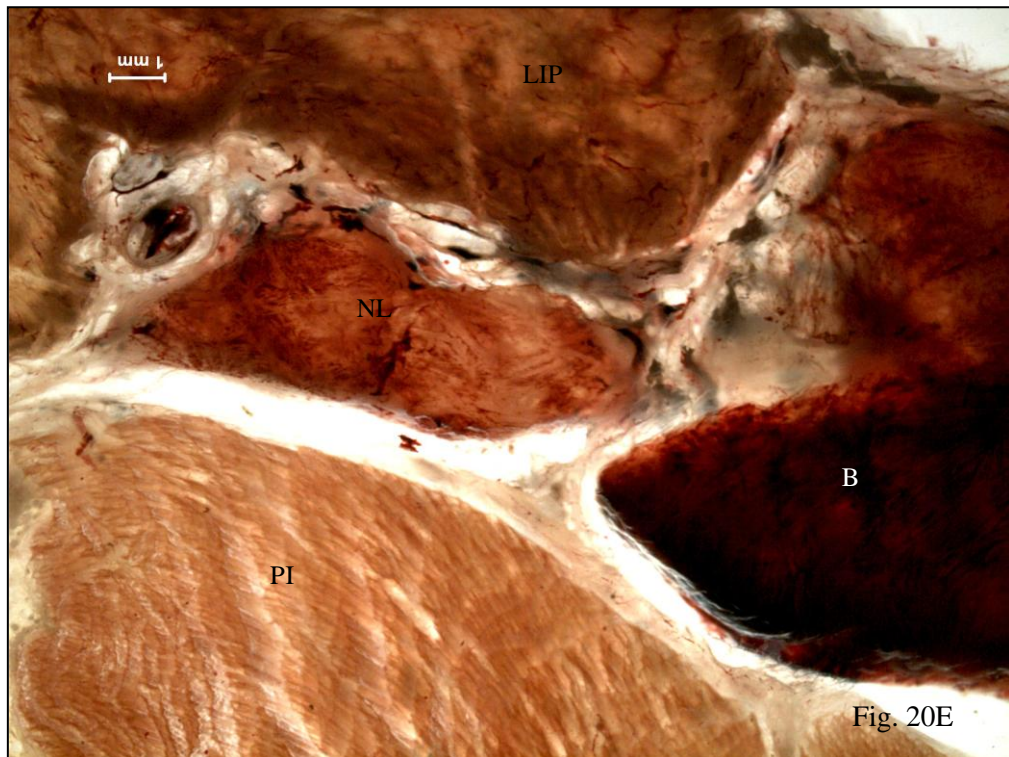
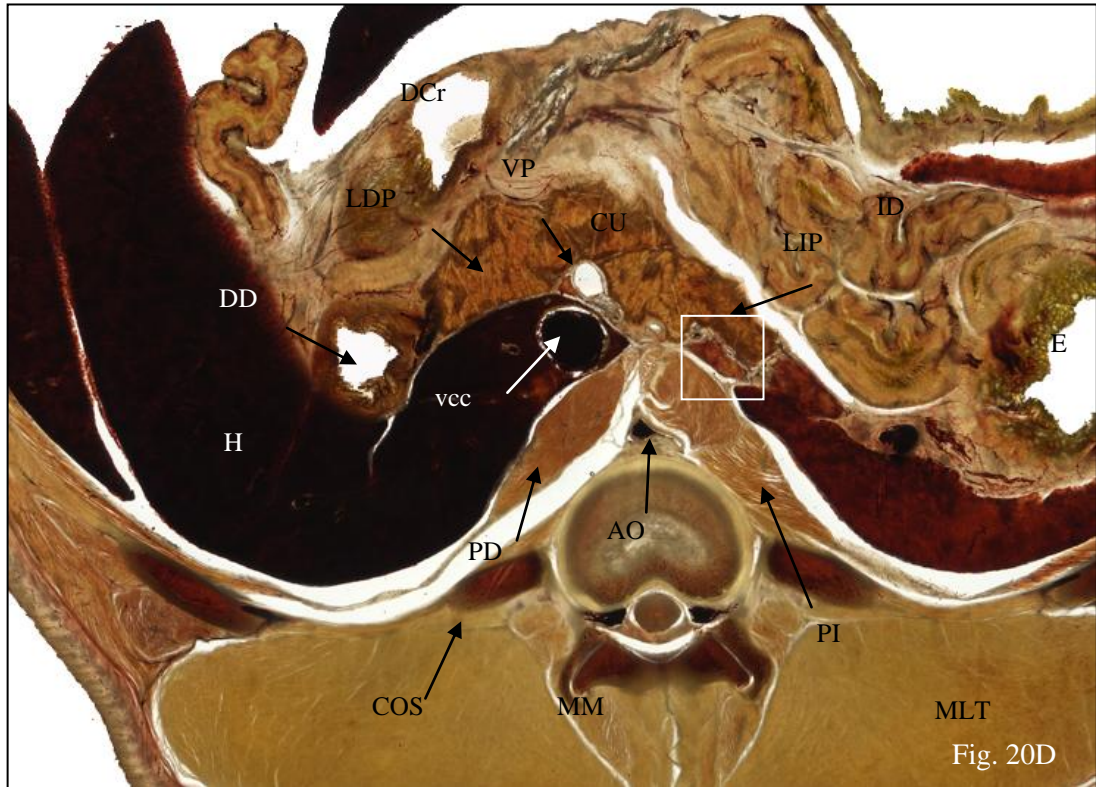


Fig. 20B







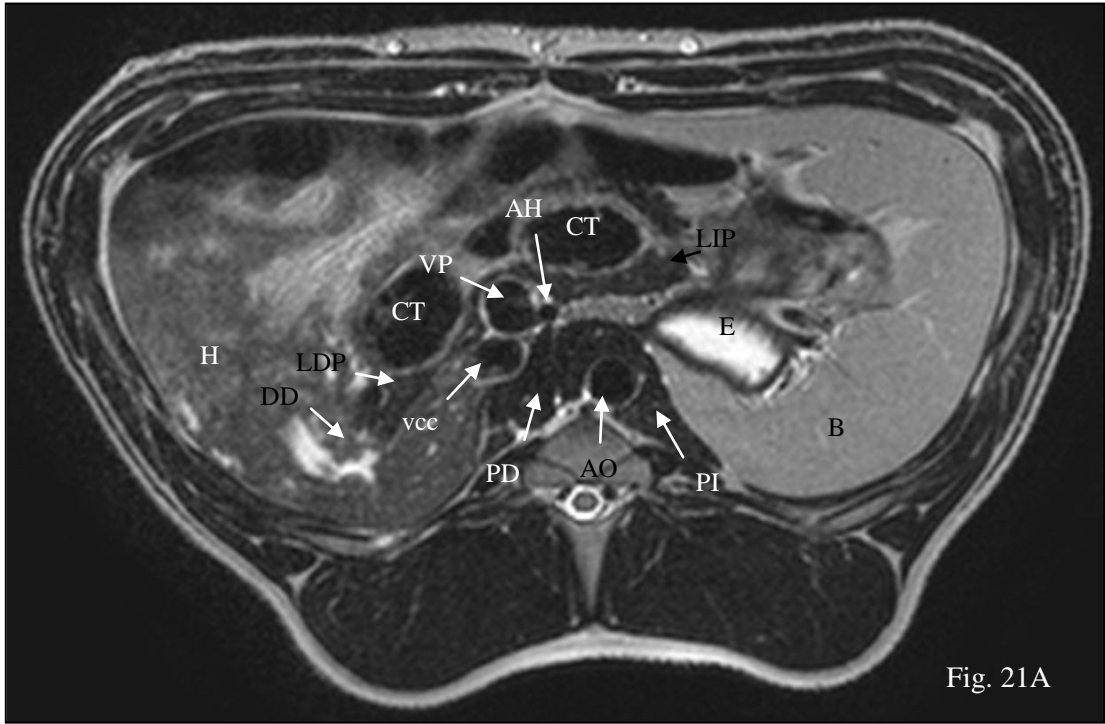
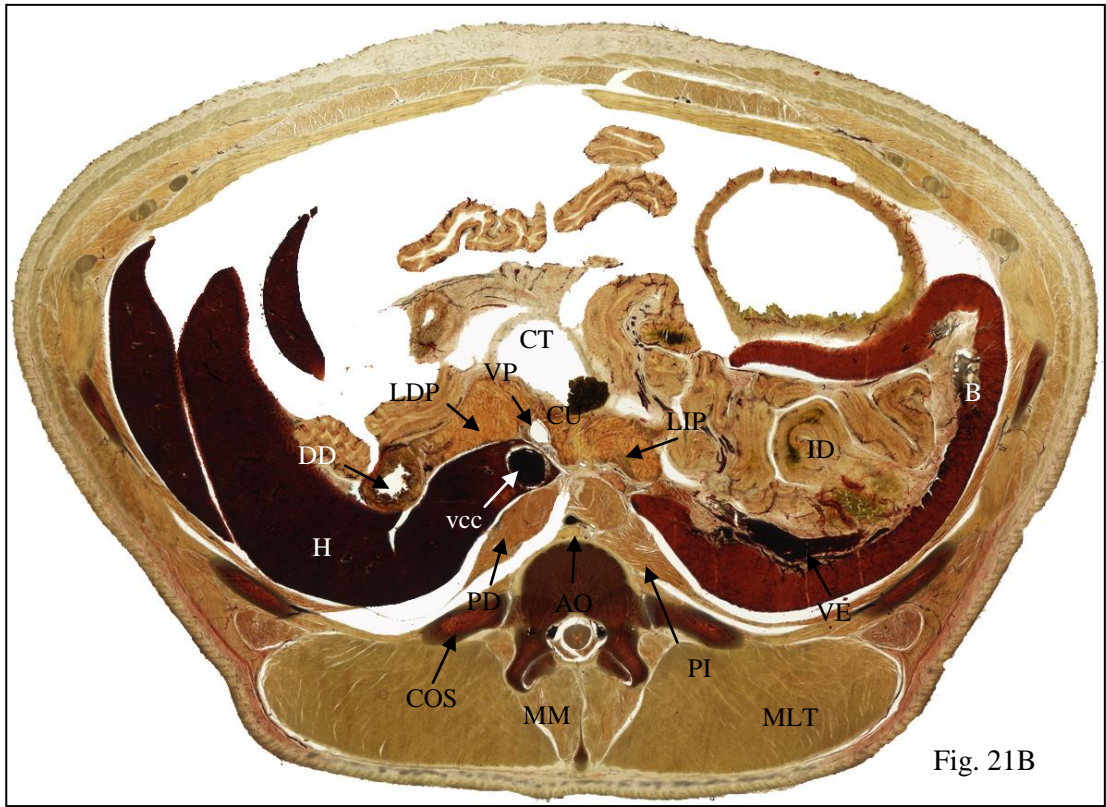


Fig. 21A





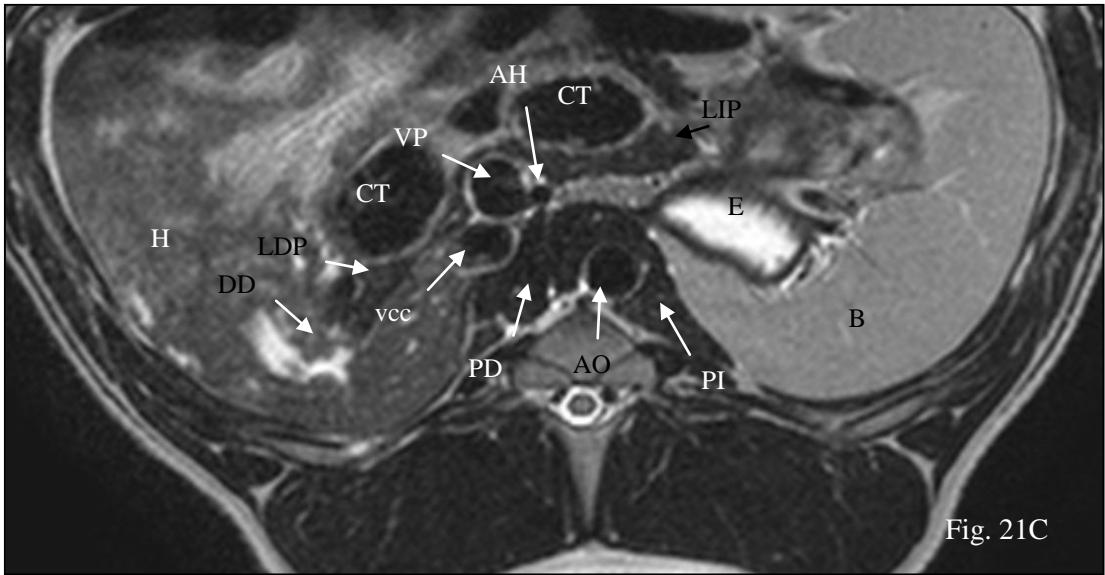


Fig. 21C

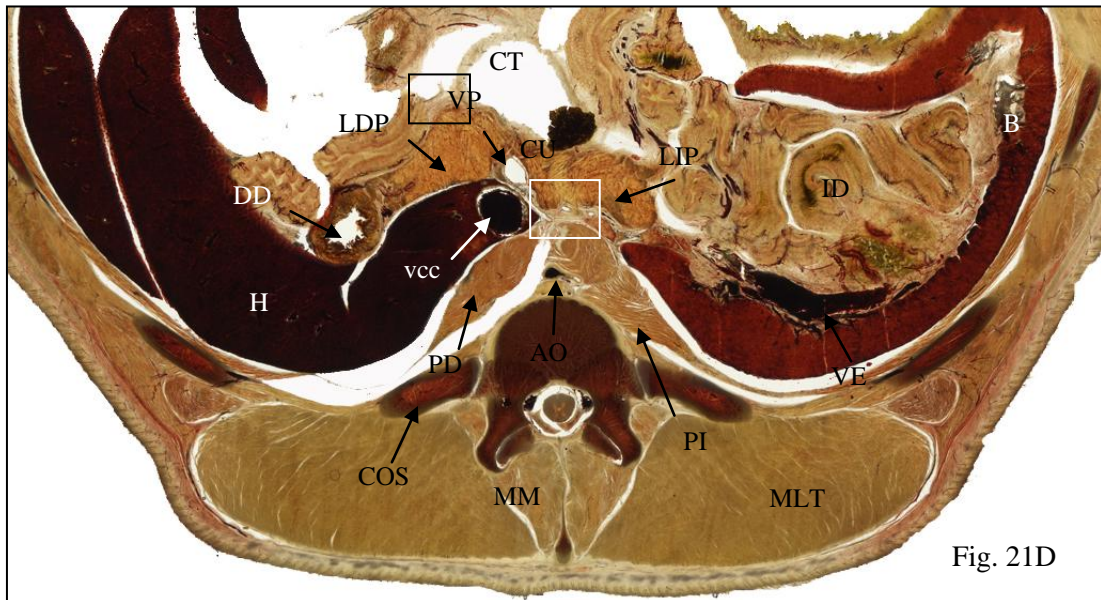
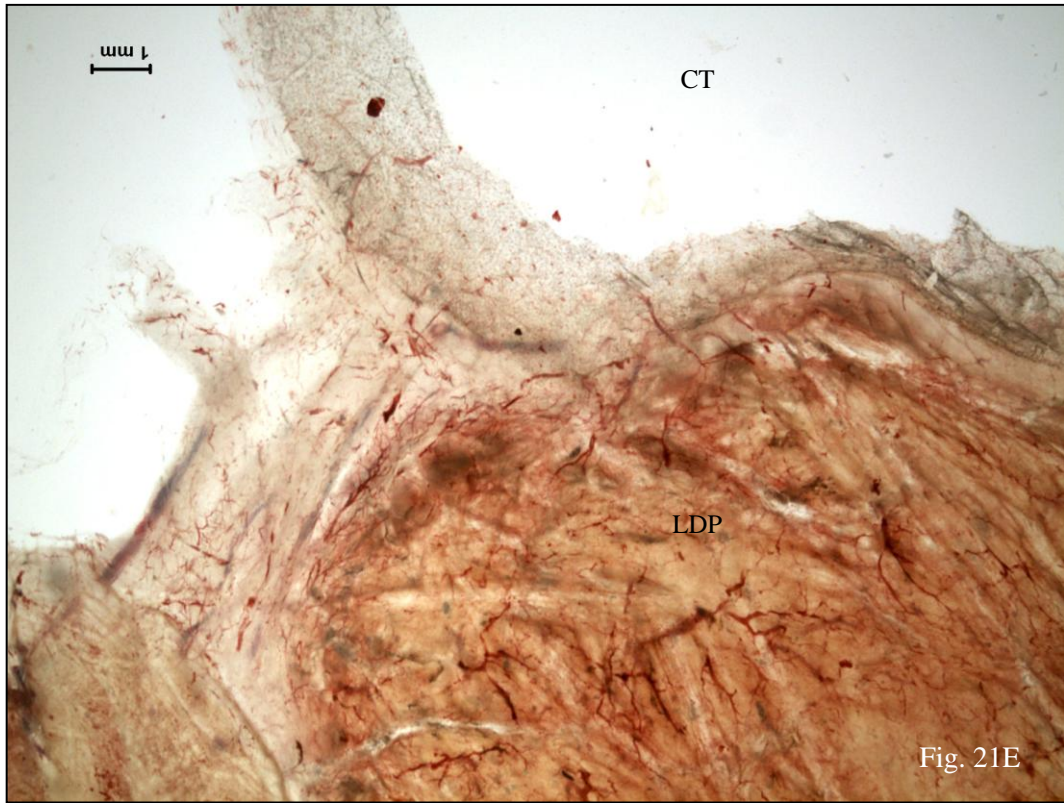


Fig. 21D



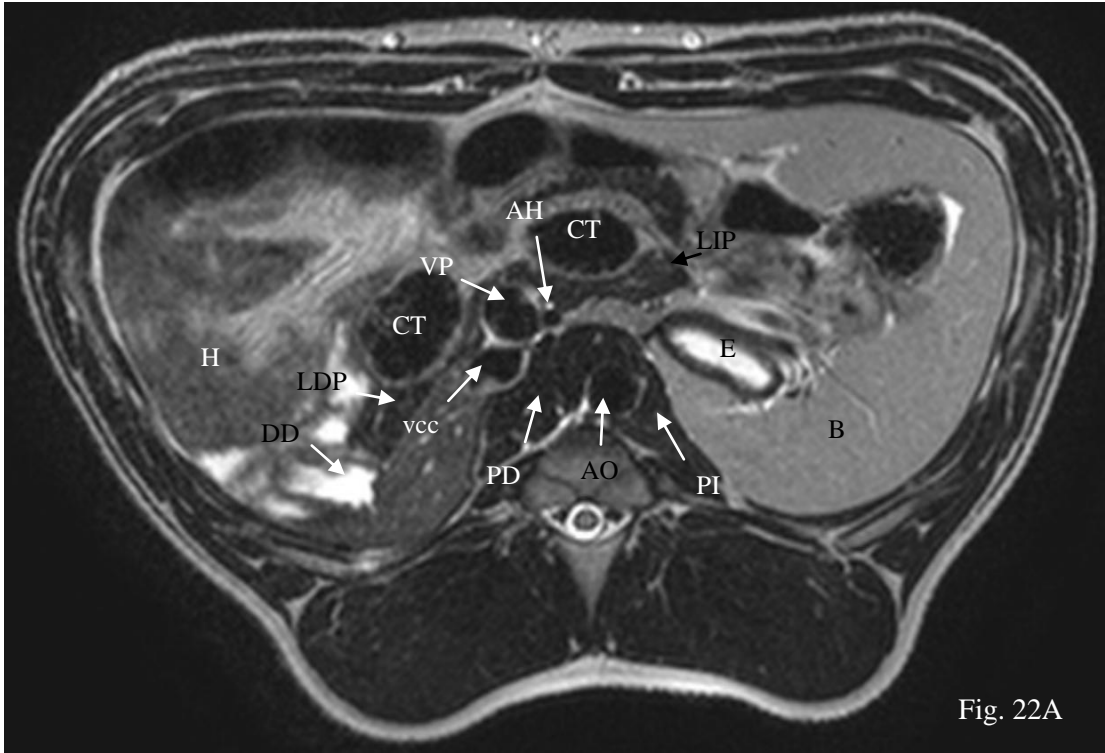


Fig. 22A





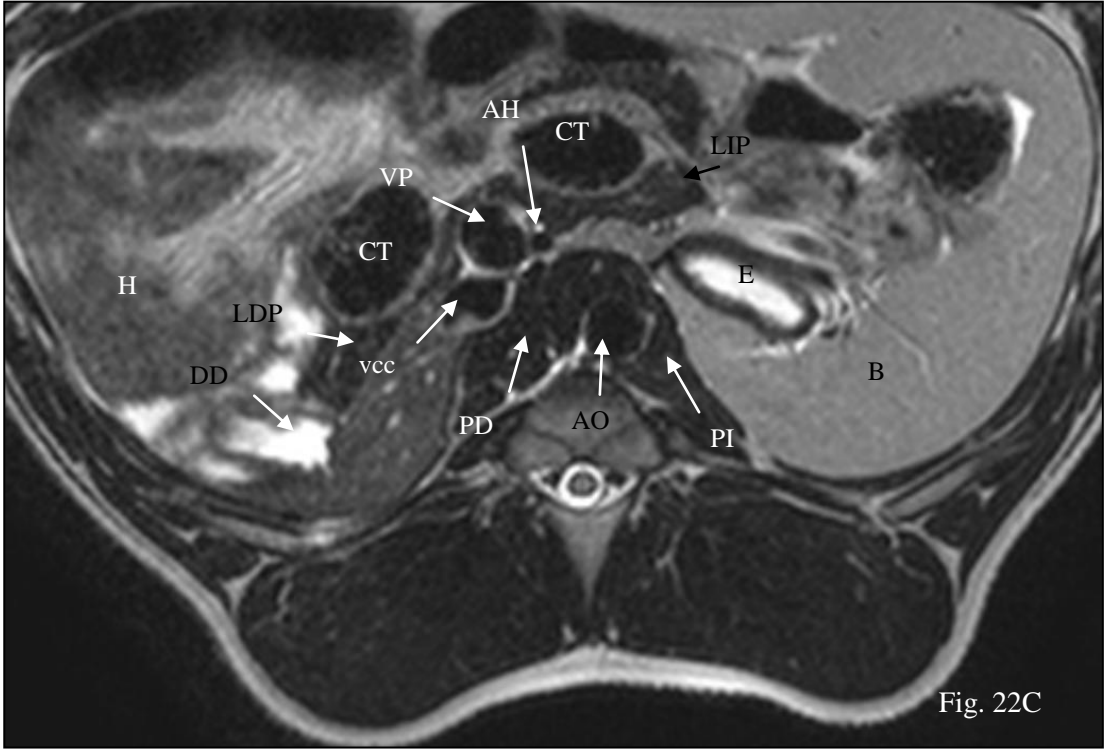


Fig. 22C

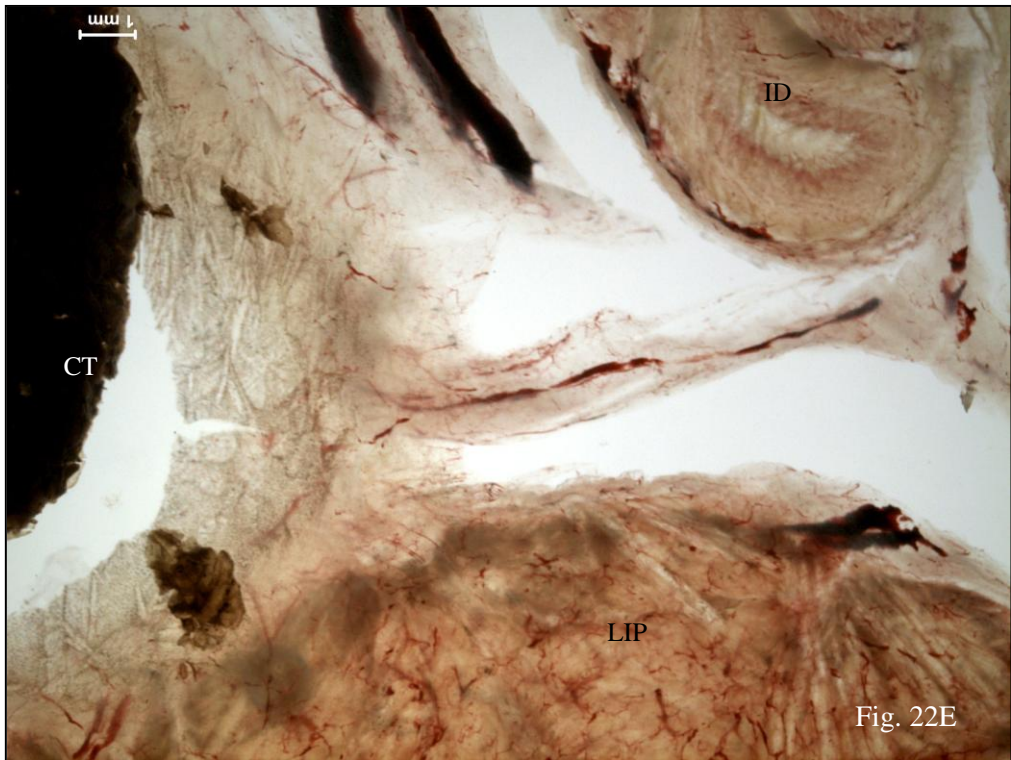
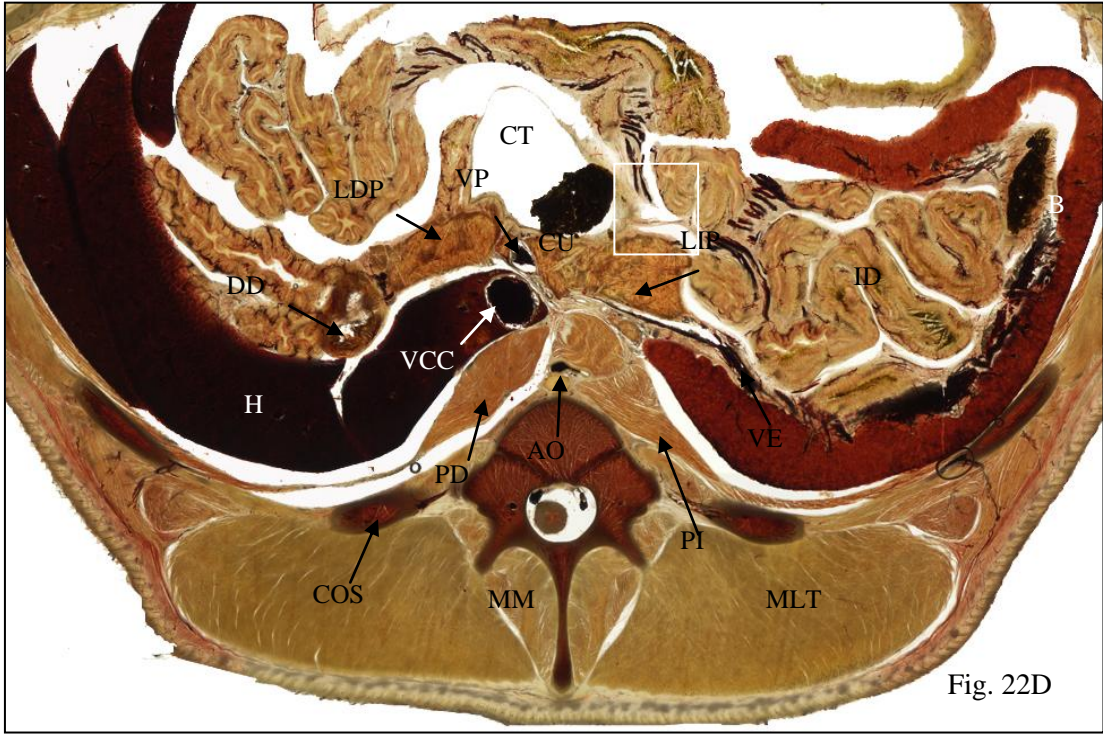


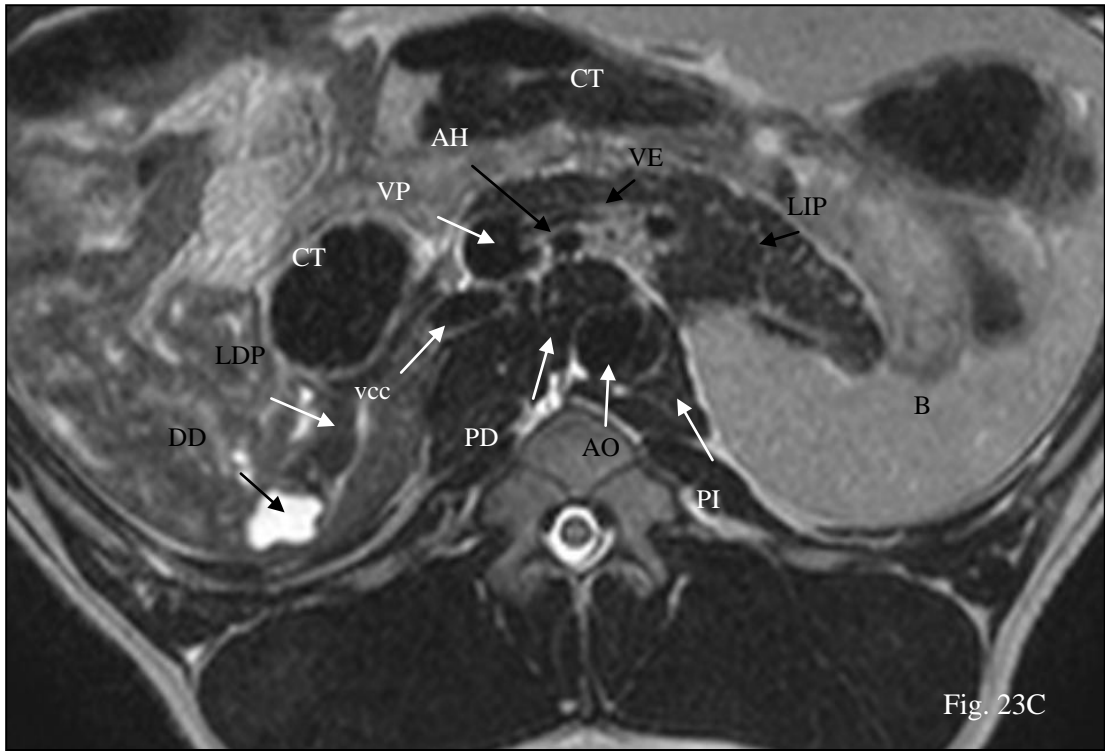


Fig. 23A





Fig. 23B





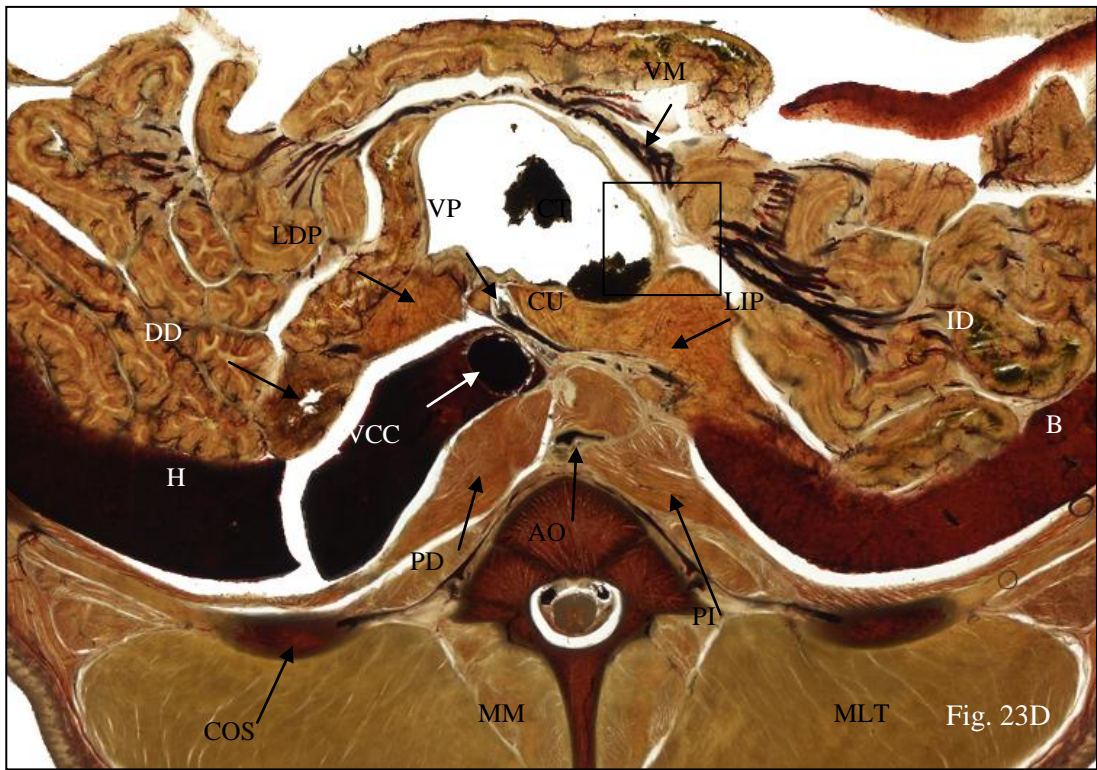


Fig. 23D

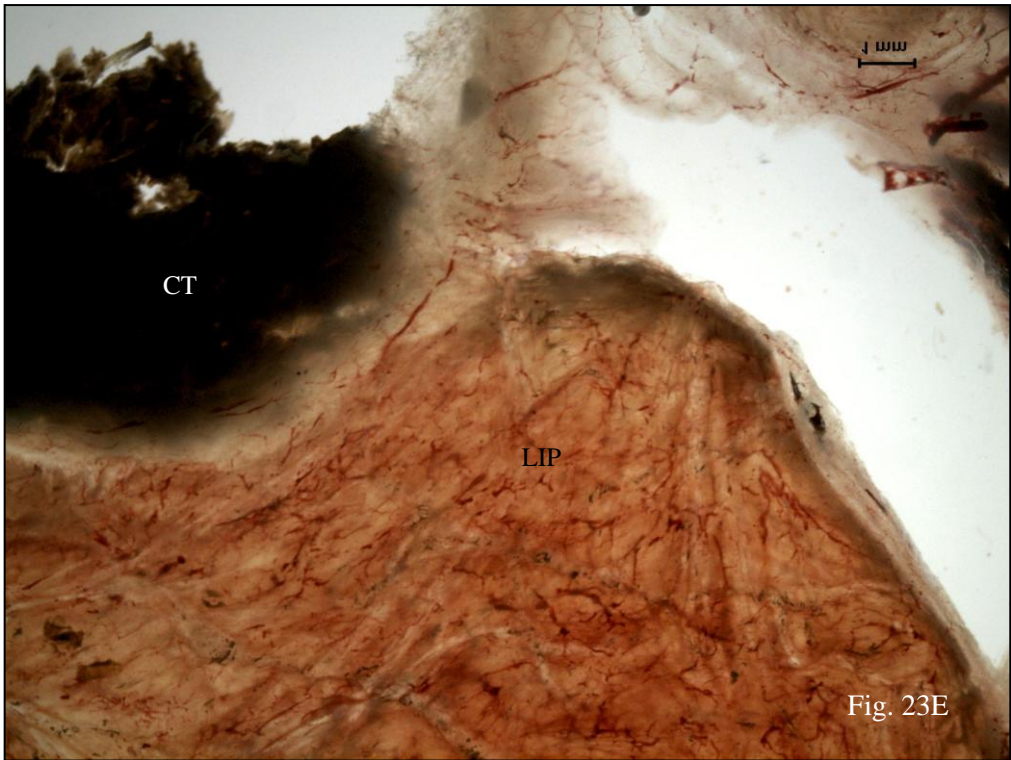


Fig. 23E



Fig. 24A

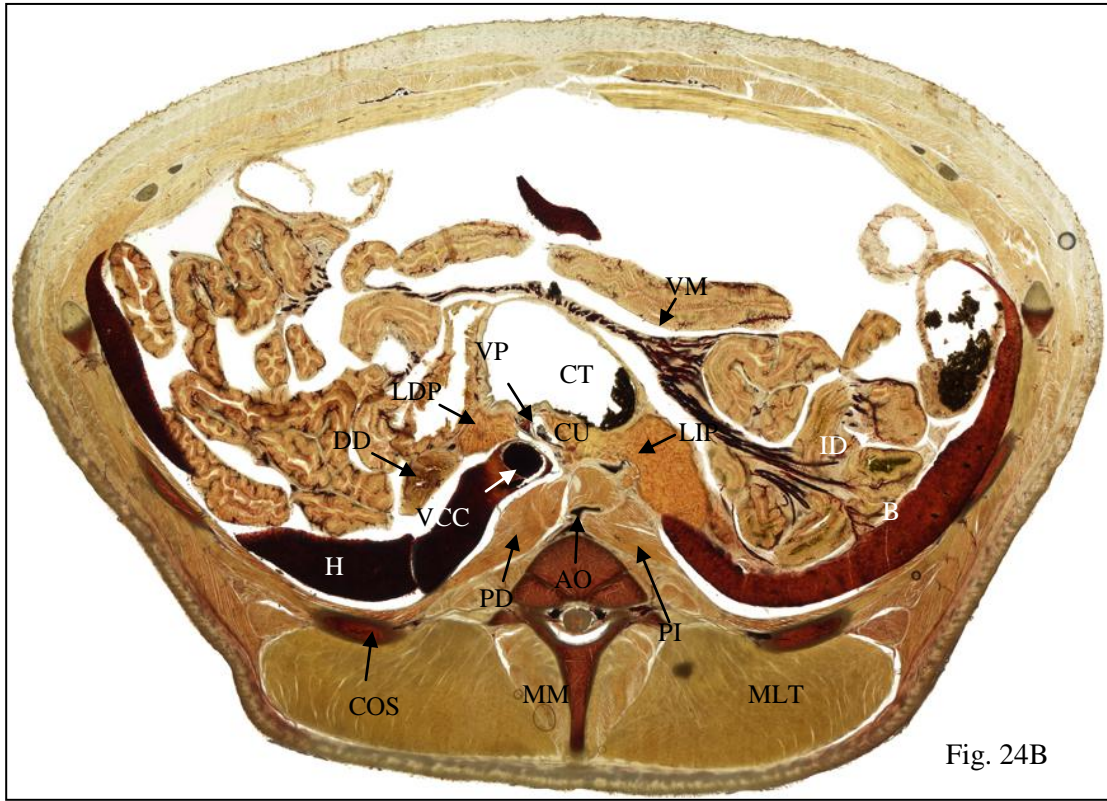


Fig. 24B





Fig. 24C

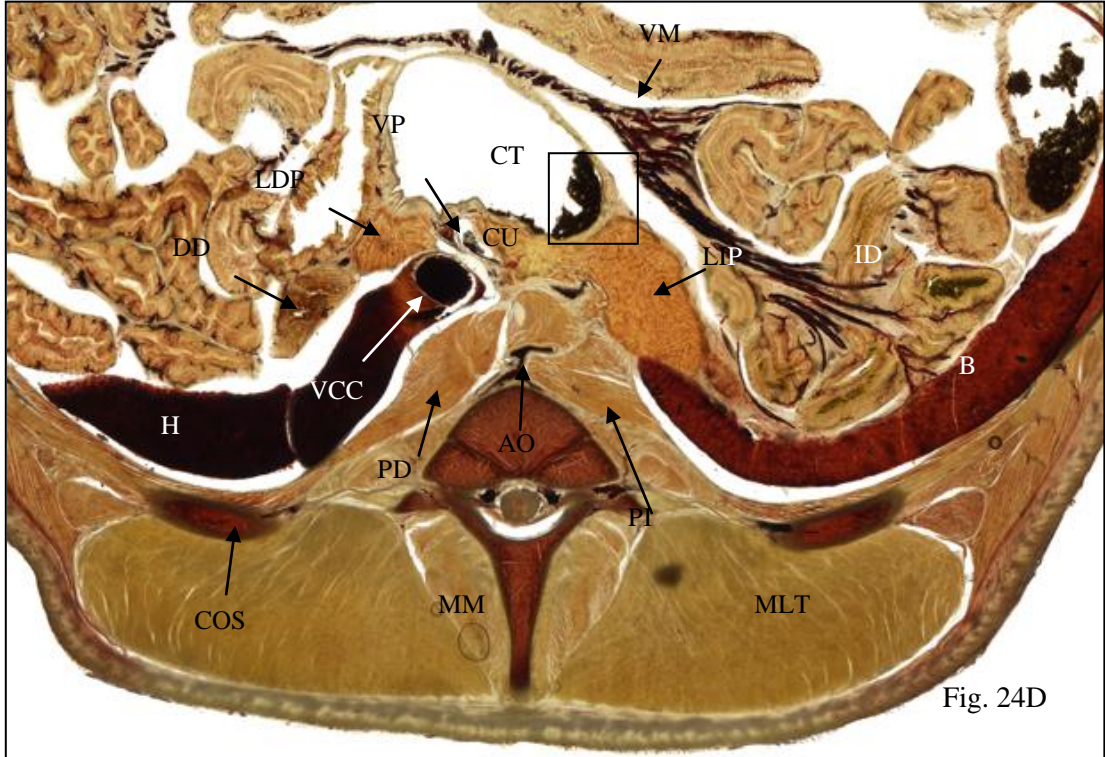
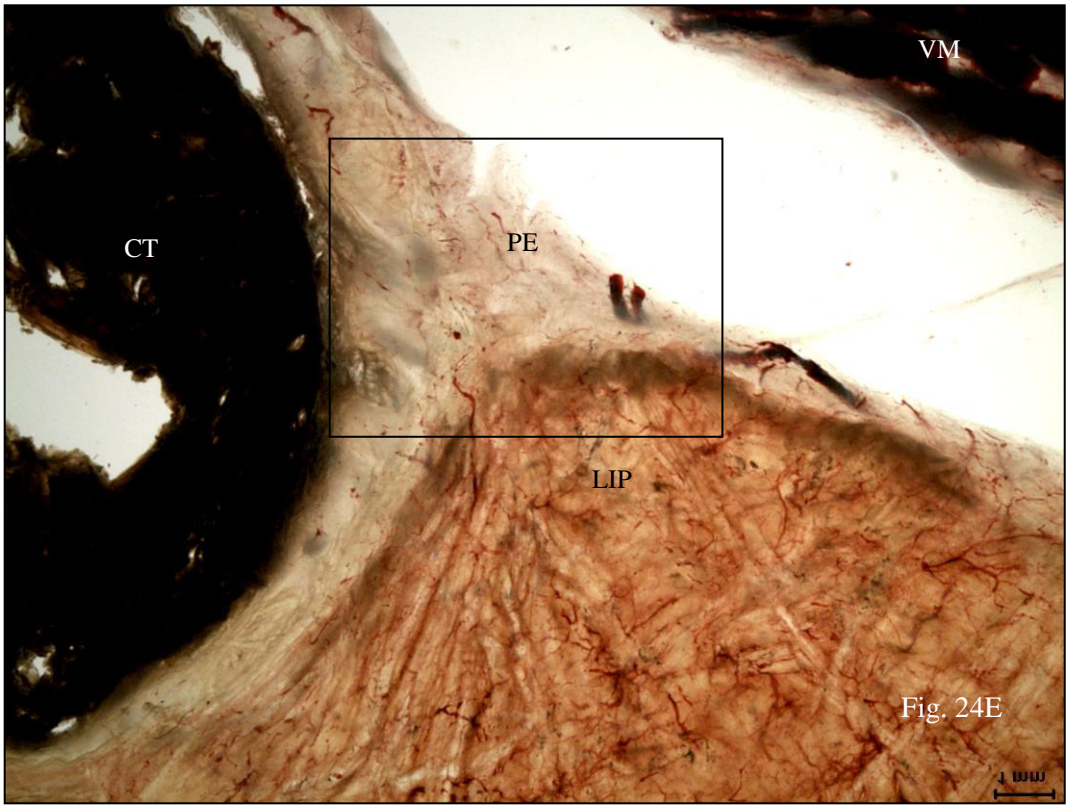


Fig. 24D



### 4.1.3 Histología del páncreas.

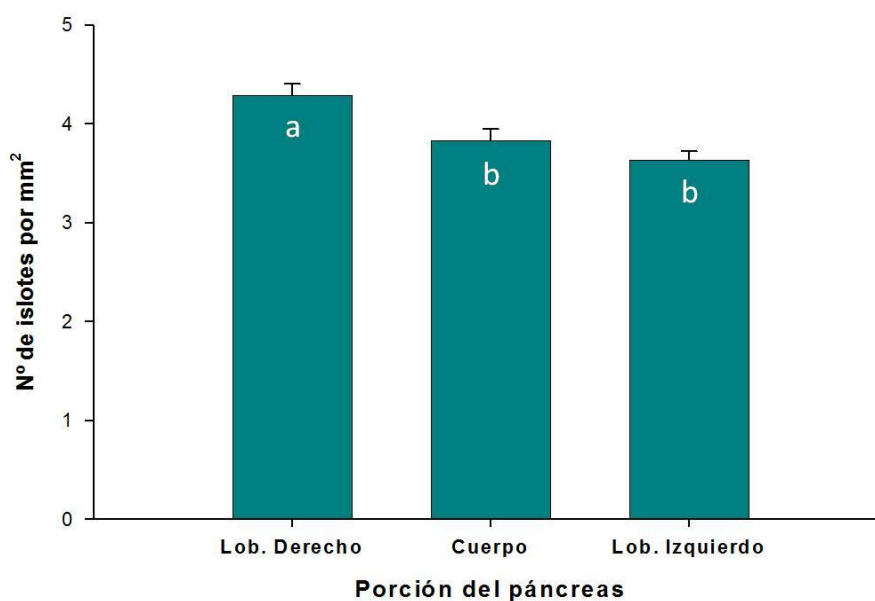
Se analizan a continuación los resultados obtenidos sobre tamaños y porcentajes de islotes pancreáticos en las distintas porciones del páncreas.

#### Resultados sobre el número de islotes pancreáticos por unidad de área.

En las siguientes tabla y gráfica se muestran los resultados del número de islotes por unidad de área en cada porción del páncreas, expresados en valores medios sobre un total de 1013 islotes analizados.

Porción	n	Media	Desviación típica
Lóbulo derecho	321	4,29	2,158
Cuerpo	279	3,83	2,019
Lóbulo izquierdo	413	3,63	1,836

Media del nº de islotes en cada porción del páncreas



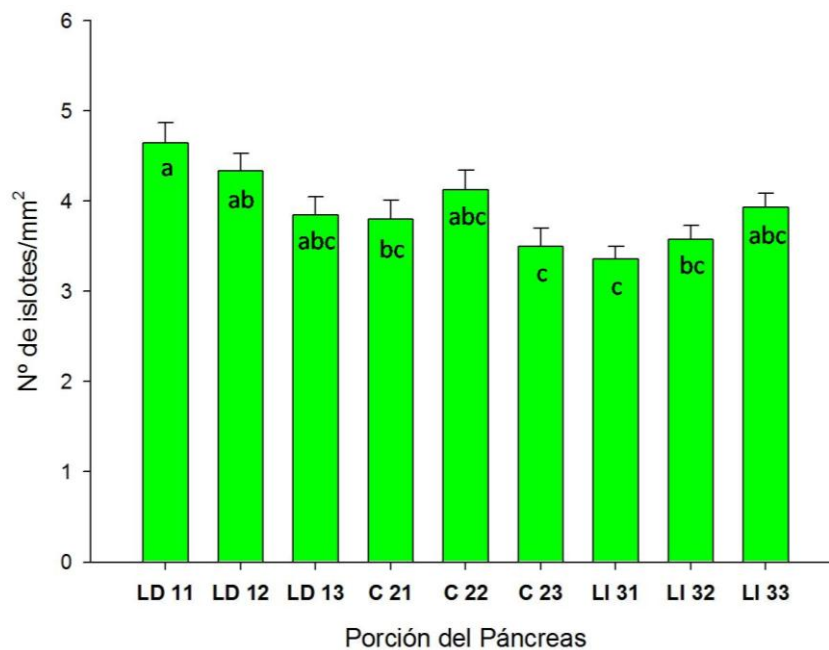


El lóbulo derecho es el que muestra mayor número de islotes pancreáticos, siendo significativamente mayor que en las demás porciones del páncreas. El cuerpo y el lóbulo izquierdo del páncreas no presentan diferencias significativas entre sí. (Figs. 26 y 27) Para un estudio más preciso sobre la frecuencia de islotes por unidad de área en el cuerpo y en los lóbulos pancreáticos, el páncreas se ha dividido en nueve porciones numeradas de derecha a izquierda. Tres de ellas corresponden al lóbulo derecho (LD11, LD12 y LD13), tres al cuerpo (C21, C22 y C23) y las tres últimas al lóbulo izquierdo (LI11, LI12 y LI13). Los resultados para cada una de estas porciones, en cuanto al número de islotes, se presentan en las siguientes tabla y gráfica.

Zona	n	Media	Desviación típica
LD 11	114	4,65	2,417
LD 12	99	4,34	1,885
LD 13	108	3,85	2,041
C 21	93	3,80	2,030
C 22	102	4,13	2,137
C 23	84	3,50	1,820
LI 31	131	3,36	1,674
LI 32	146	3,58	1,860
LI 33	136	3,93	1,925

*LD 11: porción del extremo del lóbulo derecho del páncreas. LD 12: porción media del lóbulo derecho del páncreas. LD 13: porción próxima al cuerpo del páncreas. C21: porción del cuerpo próxima al lóbulo derecho del páncreas. C 22: porción media del cuerpo del páncreas. C23: porción próxima al lóbulo izquierdo del páncreas. LI31: porción proximal al cuerpo del páncreas. LI 32: porción media del lóbulo izquierdo del páncreas. LI33: porción del extremo del lóbulo izquierdo del páncreas.*

#### Media del nº de Islotes en cada porción del páncreas



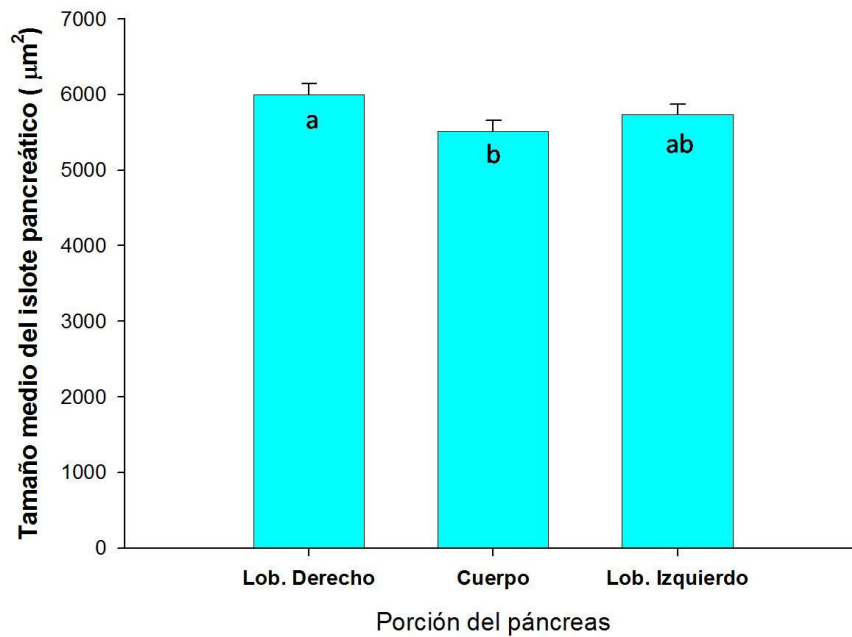
Los valores obtenidos para cada una de las tres porciones del cuerpo y de los lóbulos pancreáticos no presentan diferencias significativas entre sí. Las diferencias significativas aparecen entre las porciones 1 y 2 del lóbulo derecho, y entre las porciones 3 del cuerpo y 1 del lóbulo derecho.

### **Resultados sobre el tamaño de los islotes pancreáticos:**

En la siguiente tabla se muestran los resultados sobre los valores medios del tamaño de los islotes pancreáticos, en cada porción del páncreas.

Porción	n	Media	Desviación típica
Lóbulo derecho	1381	5997,001	5352,948
Cuerpo	1083	5513,353	4789,708
Lóbulo Izquierdo	1479	5734,651	5063,921

### Tamaño medio de islotes pancreáticos en cada porción



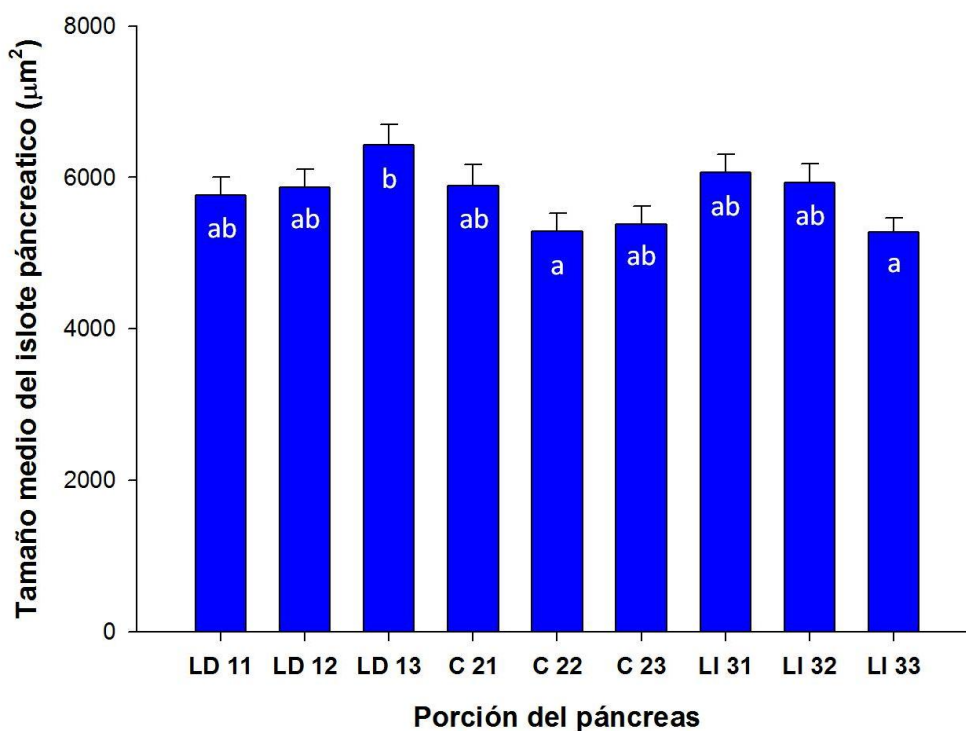
El lóbulo derecho muestra un tamaño de islotes pancreáticos con valores máximos de  $38212,35 \mu\text{m}^2$ , y cuyo valor medio es significativamente mayor al cuerpo pero no al lóbulo izquierdo. El cuerpo presenta los islotes pancreáticos más pequeños con valores medios de  $5513,353 \mu\text{m}^2$ , alcanzando valores máximos de  $51739,92 \mu\text{m}^2$ . Esta porción pancreática no presenta diferencias significativas con el lóbulo izquierdo. El tamaño de los islotes en el lóbulo izquierdo (valor medio:  $5734,651 \mu\text{m}^2$ ) no presenta diferencias significativas ni con el lóbulo derecho ni con el cuerpo. Los valores máximos para este lóbulo alcanzan  $71120,99 \mu\text{m}^2$  (Figs. 25,26 y 27).

Los resultados sobre los tamaños para cada una de las porciones en las que dividimos el cuerpo y los lóbulos pancreáticos se presentan en la tabla y gráfica siguientes:

Zona	n	Media	Desviación típica
LD 11	533	5761,383	5496,012
LD 12	430	5867,765	4997,930
LD 13	418	6430,387	5505,941
C 21	354	5895,210	5199,984
C 22	434	5294,413	4801,990
C 23	295	5377,227	4211,638
LI 31	415	6065,311	4904,128
LI 32	529	5931,730	5829,244
LI 33	535	5283,289	4289,935

*LD 11: porción del extremo del lóbulo derecho del páncreas. LD 12: porción media del lóbulo derecho del páncreas. LD 13: porción próxima al cuerpo del páncreas. C21: porción del cuerpo próxima al lóbulo derecho del páncreas. C 22: porción media del cuerpo del páncreas. C23: porción próxima al lóbulo izquierdo del páncreas. LI31: porción proxima al cuerpo del páncreas. LI 32: porción media del lóbulo izquierdo del páncreas. LI33: porción del extremo del lóbulo izquierdo del páncreas.*

### Tamaño medio de islote pancreático



Estos resultados revelan que el mayor tamaño medio de los islotes en el lóbulo derecho del páncreas se debe, principalmente, a los islotes de la porción 3 de este lóbulo, es decir a la porción más próxima al cuerpo del páncreas. En el cuerpo los islotes con diámetros más pequeños se localizan en la zona central o porción 2. De igual forma, en el lóbulo izquierdo los islotes más pequeños están localizados en la porción del extremo del lóbulo o porción 3.

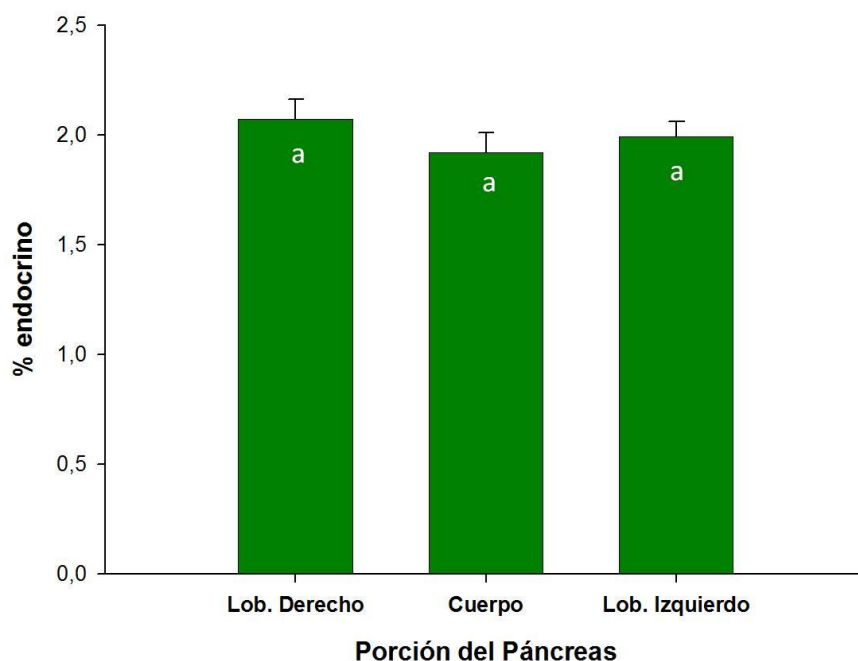
### **Resultados sobre el porcentaje del páncreas endocrino:**

En base al tamaño y al número de islotes pancreáticos por campo histológico analizado, podemos estimar la superficie ocupada por el páncreas endocrino respecto a la superficie total controlada. Por último estimaremos el porcentaje de páncreas endocrino en los lóbulos y en el cuerpo. En la tabla y gráfica siguientes se muestran los valores medios del porcentaje endocrino en el cuerpo y en los lóbulos pancreáticos.

Porción	n	Media	Desviación típica
Lóbulo derecho	321	2,078	1,626
Cuerpo	279	1,929	1,508
Lóbulo izquierdo	413	1,999	1,597



### % páncreas endocrino en cada porción

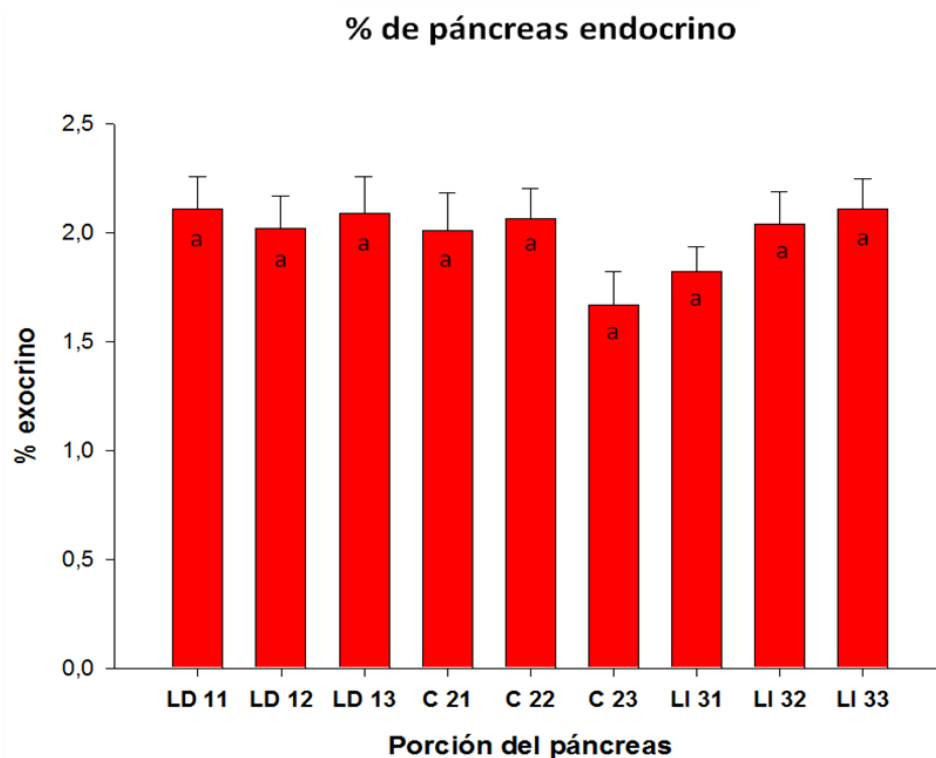


Los resultados obtenidos no muestran diferencias significativas entre el cuerpo y lóbulos pancreáticos. Los valores porcentuales obtenidos en dichas porciones oscilan entre 1,92 y el 2,08%. Este mayor porcentaje de páncreas endocrino lo obtenemos en el lóbulo derecho.

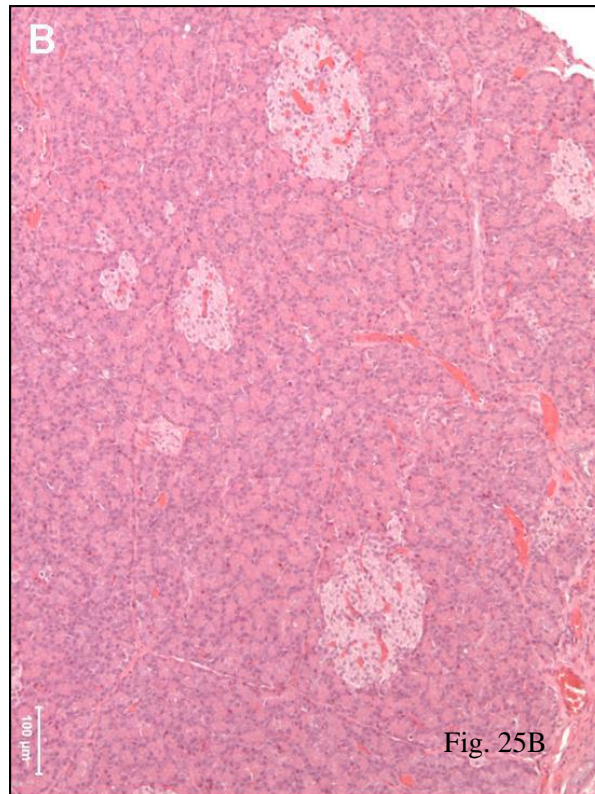
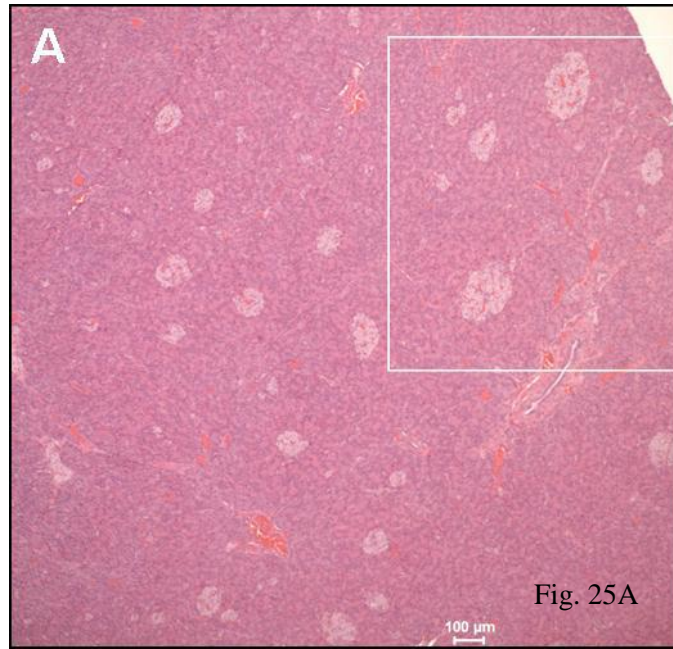
Los resultados sobre el porcentaje de parénquima endocrino para cada una de las nueve porciones en las que dividimos el cuerpo y los lóbulos pancreáticos, se presentan en la tabla y gráfica siguientes:

Zona	n	Media	Desviación típica
LD 11	114	2,117	1,576
LD 12	99	2,022	1,464
LD 13	108	2,088	1,822
C 21	93	2,010	1,681
C 22	102	2,064	1,414
C 23	84	1,678	1,399
LI 31	131	1,828	1,350
LI 32	146	2,048	1,799
LI 33	136	2,112	1,582

*LD 11: porción del extremo del lóbulo derecho del páncreas. LD 12: porción media del lóbulo derecho del páncreas. LD 13: porción próxima al cuerpo del páncreas. C21: porción del cuerpo próxima al lóbulo derecho del páncreas. C 22: porción media del cuerpo del páncreas. C23: porción próxima al lóbulo izquierdo del páncreas. LI31: porción próxima al cuerpo del páncreas. LI 32: porción media del lóbulo izquierdo del páncreas. LI33: porción del extremo del lóbulo izquierdo del páncreas.*

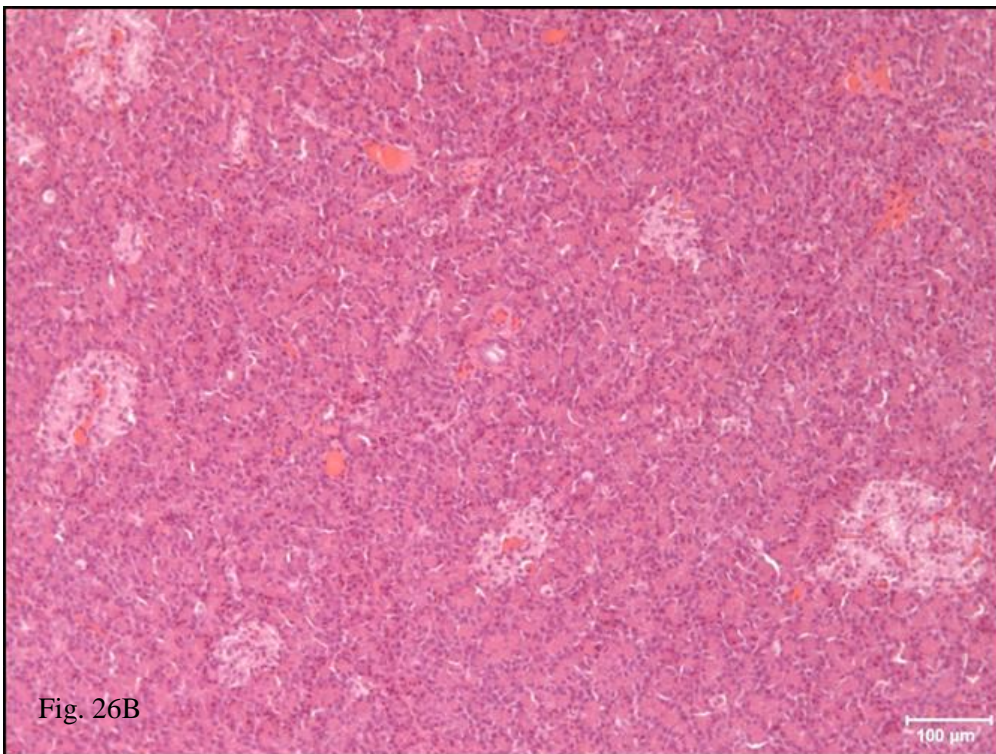
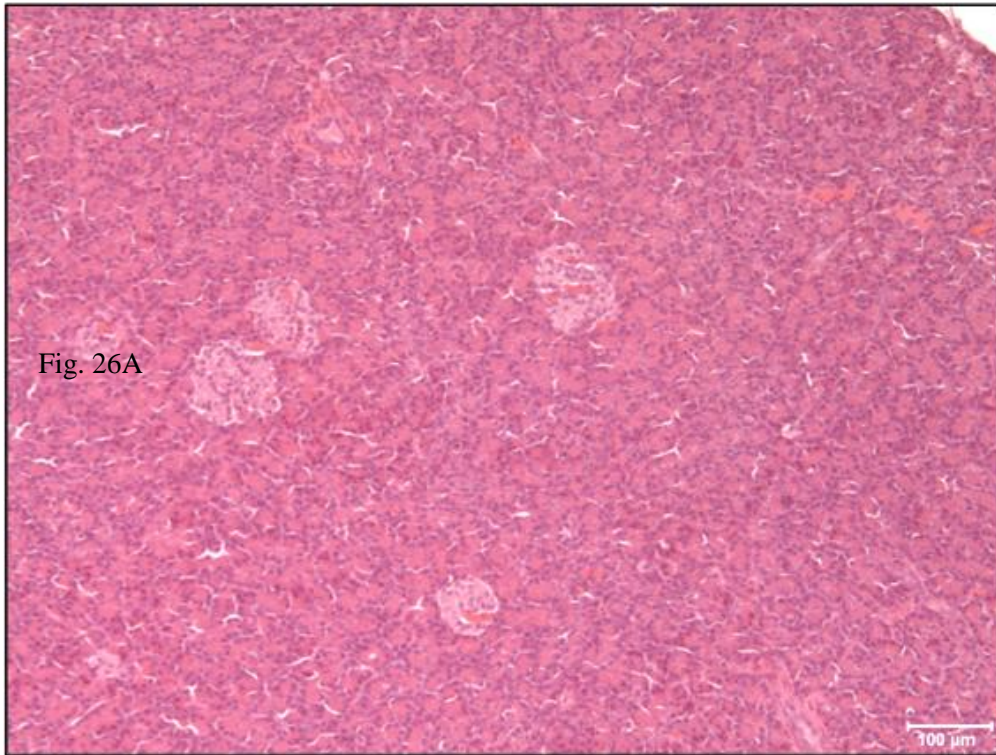


No se presentan diferencias significativas entre las nueve porciones pancreáticas analizadas.



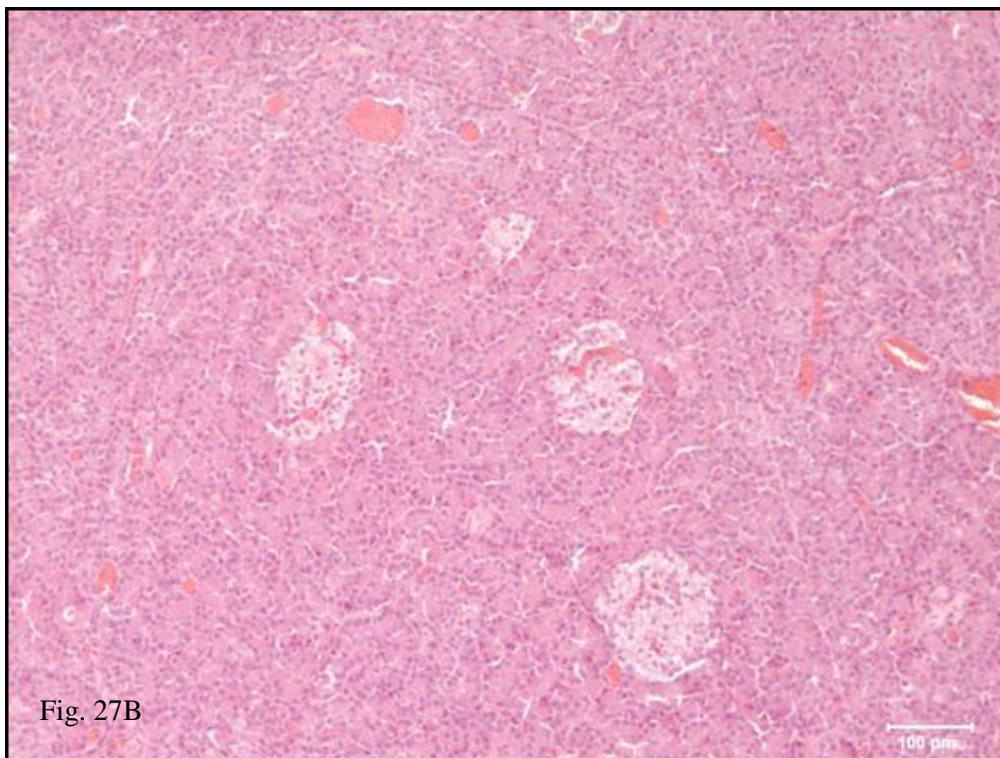
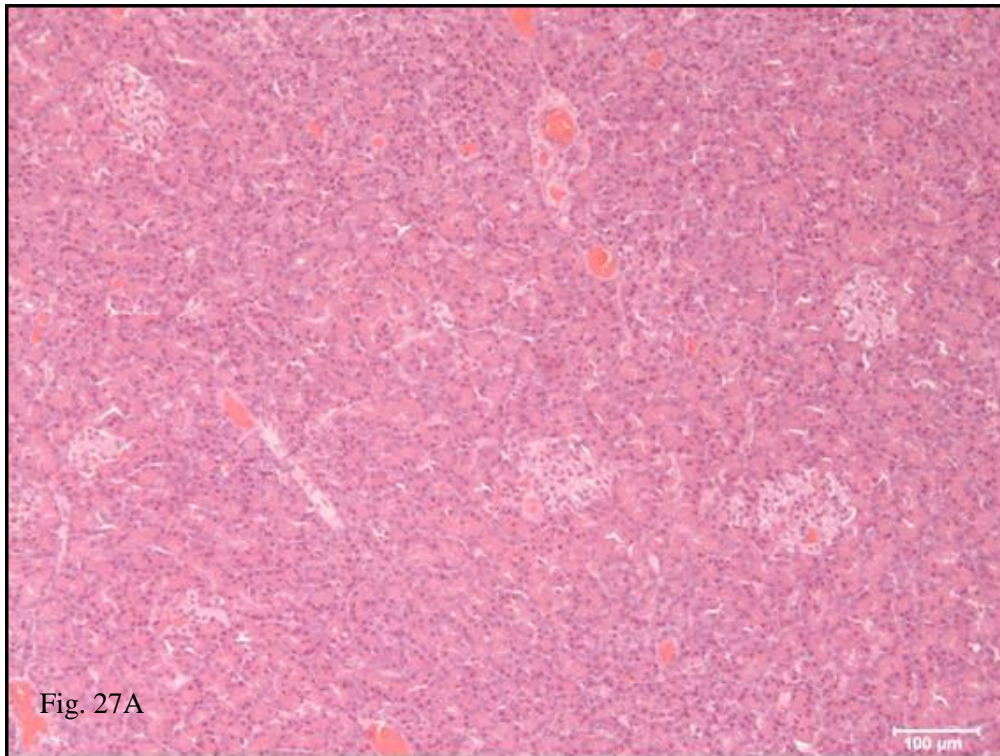
**Figura 25.** Imágenes del parénquima pancreático correspondientes al lóbulo derecho del páncreas. **A.** Tinción histológica H-E (4x). **B.** Ampliación de la imagen A (10x).





**Figura 26.** Imágenes del parénquima pancreático correspondientes al cuerpo del páncreas. Tinción histológica H-E (10x).





**Figura 27.** Imágenes del parénquima pancreático correspondientes al lóbulo izquierdo del páncreas. Tinción histológica H-E (10x).

## **4.2 ANATOMÍA VASCULAR DEL PÁNCREAS PORCINO**

### **4.2.1 Resultados obtenidos de las corrosiones vasculares (Fig. 28-39).**

Los moldes del páncreas obtenidos tras corrosiones químicas y enzimáticas presentaron gran calidad respecto a la definición de los trayectos vasculares. A pesar de realizarse inyecciones tanto arteriales como venosas en los cadáveres, centramos los resultados en la distribución arterial por su mayor interés para el diseño del abordaje endovascular. Por otra parte, los resultados de las corrosiones fueron mejores en las arterias que en las venas. En algunos especímenes, la profundidad de la inyección tuvo como resultado moldes vasculares donde el entramado capilar no permitía la identificación de las arterias de mayor calibre (Fig. 28). En la mayoría de los moldes fue necesario ir resecaando las ramas de menor calibre para así poder evidenciar el trayecto de aquellas arterias que ofrecen un mayor interés para el estudio.

El análisis de los moldes vasculares obtenidos se centra en identificar las diferentes arterias implicadas en la vascularización del páncreas. De ellas se pretende seleccionar las que puedan ser objeto de un potencial abordaje endovascular al páncreas. Los criterios contemplados para esta selección obedecen a características morfológicas y a la distribución que presentan en el páncreas. Se intenta identificar aquellas ramas de distribución exclusiva en páncreas (ramas terminales) y que tengan un diámetro interior (lumen) suficiente para poder trabajar con catéteres endovasculares.



En todas las corrosiones se identifica la arteria celiaca, coincidiendo su arranque de la aorta abdominal con el nivel T15. Sus ramas, las arterias hepática y esplénica, son las principales arterias responsables de la vascularización del páncreas. El estudio de la arteria mesentérica craneal se descartó por la dificultad que esta arteria presenta para trabajar, mediante técnicas de abordaje endovascular, debido al elevado número de ramas que de ella derivan.

En las corrosiones se observan ramas terminales de pequeño calibre para el cuerpo y parte de los lóbulos, procedentes de las arterias celiaca, hepática y gastroduodenal (Figs. 29, 34, 35). Estas ramas arteriales se descartaron para el estudio radiológico debido a su reducido diámetro.

Por otro lado, se analizaron los resultados obtenidos sobre el sistema arterial del cuerpo y lóbulo derecho del páncreas. Esta vascularización la aportan la arteria pancreaticoduodenal craneal, desprendida de la arteria gastroduodenal, y la arteria pancreaticoduodenal caudal que procede de la arteria mesentérica craneal (Fig. 31,34). Dichas arterias no son terminales, sino que se anastomosan para formar una arcada pancreaticoduodenal que circundan al duodeno, así como al cuerpo y lóbulo derecho del páncreas.

Con respecto al lóbulo izquierdo del páncreas, las corrosiones ponen de manifiesto una rama pancreática, constante y principal, para esta porción del páncreas. Se trata de la rama pancreática derivada de la arteria esplénica, arteria que se desprende de la primera porción de la arteria esplénica en el

80% de las corrosiones (Figs. 29-32) y de la arteria hepática en un 20% (Figs.34-37). La rama pancreática se desplaza siempre en dirección caudal y hacia el lóbulo izquierdo del páncreas, independientemente de su origen.

Se trata de una arteria terminal y exclusiva para el parénquima pancreático del lóbulo izquierdo en todas las corrosiones obtenidas. Los diámetros medios de esta arteria fueron, en el ostium o zona de origen  $2.07 \text{ mm} \pm 25.3$  (SD), a 4 mm del origen  $1.574 \text{ mm} \pm 9.203$  (SD), a 6 mm del origen  $1.581 \text{ mm} \pm 32.74$  (SD) y a 8 mm del origen  $1.395 \text{ mm} \pm 40.019$  (SD). Estos valores indican un diámetro en la zona de origen siempre superior al diámetro de un catéter endovascular de 5F (1.6 mm).

#### **4.2.2 Resultados obtenidos de las angiografías**

Las imágenes de angiotomografía con reconstrucción 3D obtenidas antes de las angiografías permiten la identificación de la anatomía vascular de grandes trocos como la arteria celíaca y sus ramas principales, las arterias esplénica y hepática. Por otra parte, es posible también la identificación de pequeñas arterias como la rama pancreática para el lóbulo izquierdo. La opción de rotación de la reconstrucción en los tres planos del espacio facilita la identificación del arranque exacto de estas pequeñas arterias que serán objeto de cateterización. En la figura 40 se puede observar cómo la rama pancreática tiene su inicio desde la arteria esplénica. Sin embargo, en la figura 42, empleando un plano de visión oblicuo izquierdo, se aprecia el arranque de la rama pancreática desde la arteria hepática. En estas mismas figuras es posible

identificar la arteria pancreáticoduodenal craneal, continuación de la arteria gastroduodenal hacia caudal (Fig. 40,41). Todos estos datos sobre la anatomía vascular se obtienen en escasos minutos y de forma directa en la estación de trabajo del equipo de tomografía computerizada.

La cateterización selectiva y la posterior angiografía de la arteria celíaca se realizó con éxito en todos los animales mediante un catéter de angiografía 5-F. (Fig. 42). En todos los animales, la arteria celíaca tuvo su arranque por la cara ventral de la aorta abdominal, desplazada hacia la izquierda y a un nivel vertebral entre el tercio caudal de la T14 (Fig. 43, 45) y el tercio craneal de la T15 (Fig. 41).

La arteriografía de la arteria pancreaticoduodenal craneal a través de las arterias hepática y gastroduodenal, fue posible aunque difícil de realizar. El doble bucle del catéter, primero en la entrada en la arteria celíaca y después en la pancreaticoduodenal craneal, dificulta los movimientos de giro necesarios para la correcta angiografía superselectiva (Fig. 34-37).

La angiografía superselectiva de la arteria gastroduodenal se consigue sin excesiva dificultad (Fig. 44). Conseguir acceder a la arteria pancreáticoduodenal craneal (Fig. 45) depende en gran medida de la tensión ocasionada en el catéter. La dificultad se pone de manifiesto cuando una vez introducido el catéter en dicha arteria se puede observar cómo parte del contraste termina refluyendo, para replecionar la arteria gastroepiploica

derecha (Fig. 46). Esta situación se produce por lo difícil de adaptar correctamente el catéter en el lumen arterial durante la arteriografía.

Las angiografías muestran que el lóbulo izquierdo del páncreas recibe el aporte sanguíneo de la rama pancreática de la arteria esplénica. Arteria que ya comentamos las variaciones que presenta en su arranque, desprendiéndose de la arteria esplénica en el 80% de los animales (Figs. 47-54) y de la arteria hepática en el 20% (Fig. 55-58).

En aquellos animales en los que la rama pancreática deriva de la arteria esplénica, lo suele hacer a una cierta distancia del origen de ésta (8-10 mm) (Fig. 47-50). Con esta anatomía vascular sobre el origen de la rama pancreática, la angiografía superselectiva de la misma resulta sencilla pues hay espacio suficiente para poder dirigir el extremo del catéter o de la guía, en sentido caudal, hasta localizar la entrada de dicha arteria (Fig. 49). La correcta implantación del extremo del catéter se constata al pasar el contraste desde el parénquima pancreático del lóbulo izquierdo hacia la vena esplénica, y posteriormente a la vena porta (Fig. 50).

En aquellos animales en los que la rama pancreática se origina muy próxima al arranque de la arteria esplénica (Figs. 52-54), disminuye el espacio necesario para dirigir el catéter hacia la mencionada rama. En estos casos, el catéter ha de acceder a la rama pancreática directamente desde la arteria celíaca, siendo menor así la estabilidad de su extremo. Una vez lograda la angiografía superselectiva de la rama pancreática (Fig. 53) es fácil que parte

del contraste refluya hacia la arteria esplénica, debido a la dificultad del ajuste del catéter al lumen arterial (Fig. 54).

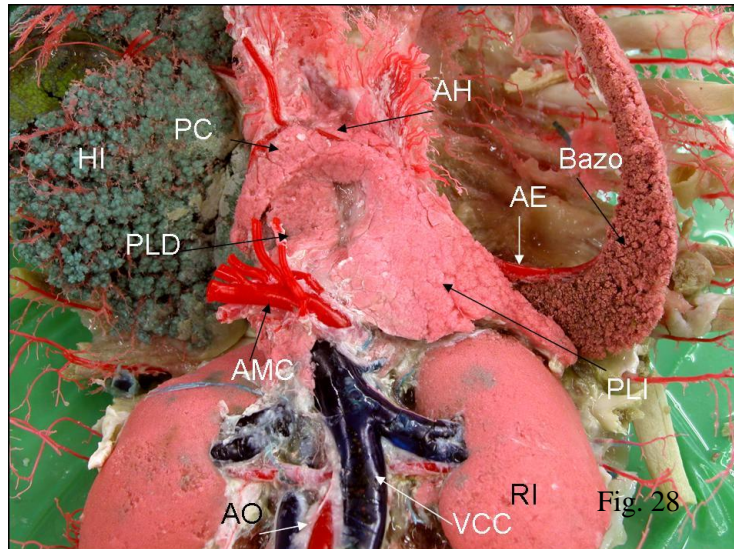
En los animales que presentan como variación vascular el origen de la rama pancreática en la arteria hepática (Figs. 55-58), la angiografía de la arteria celíaca no presenta dificultad añadida (Fig. 55). Sin embargo, una vez localizado el extremo del catéter en el lumen de la arteria celíaca con una inclinación hacia la izquierda (Fig. 56), se hace necesario buscar un trayecto hacia la derecha para poder acceder a la arteria hepática e inmediatamente volver a girar en sentido caudal para cateterizar a la rama pancreática (Figs. 56-57). Esta maniobra para obtener la angiografía superselectiva de la rama pancreática supone, además de una dificultad, cierta inestabilidad en el ajuste del catéter al lumen arterial. Esto último favorece que parte del contraste inyectado refluya hacia la arteria hepática, si bien las angiografías muestran que la mayor parte del contraste invade el lóbulo izquierdo del páncreas (Fig. 58).

A pesar de las posibles dificultades que se presentan en aquellos animales con variaciones en el arranque de la rama pancreática, en todos ellos se distribuye por el lóbulo izquierdo como arteria terminal. Debido a que el diámetro del ostium (inicio) de esta rama pancreática magna es ligeramente mayor que la punta del catéter angiográfico (5 French=1.67mm), éste puede introducirse y encajarse en el lumen de la arteria. Como resultado de esta situación, el catéter ajustado a las paredes de la arteria, se logra el bloqueo del flujo sanguíneo hacia el lóbulo izquierdo del páncreas, permitiendo un efecto

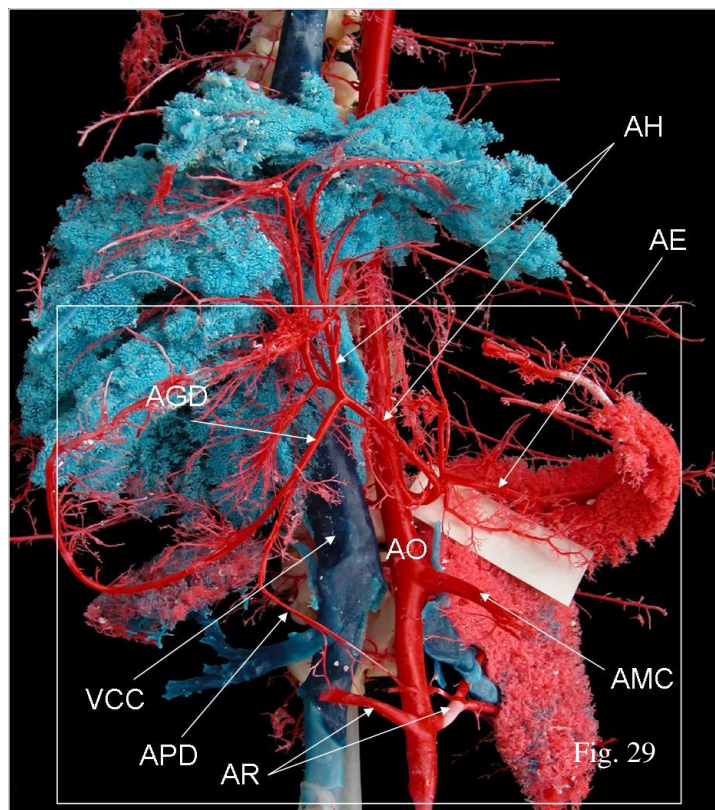
embolizante. La angiografía superselectiva de la rama pancreática muestra, en todos los animales, que el medio de contraste se disemina solo en el interior del lóbulo izquierdo del páncreas, para a continuación dirigirse hacia la vena esplénica y la vena porta (Figs. 59,60).

Las imágenes de TC posteriores a la angiografía superselectiva de la rama pancreática muestran en algunos animales (Figs. 61), áreas con permanencia de contraste solo en el lóbulo izquierdo del páncreas.

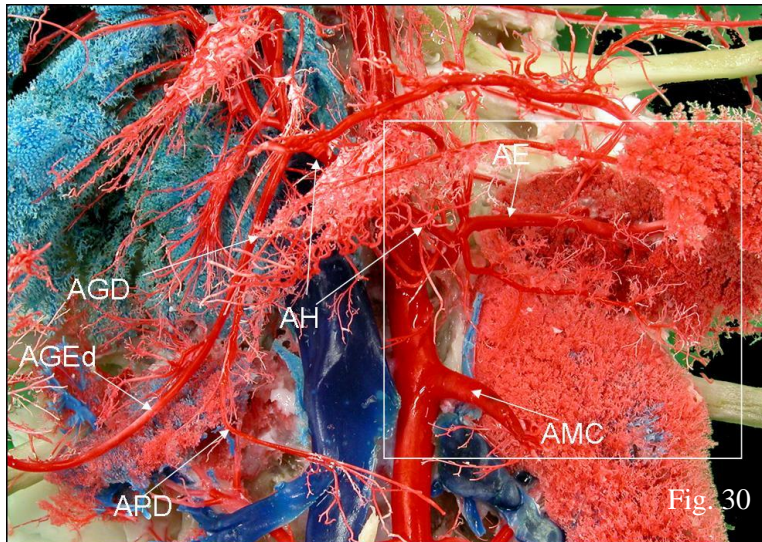




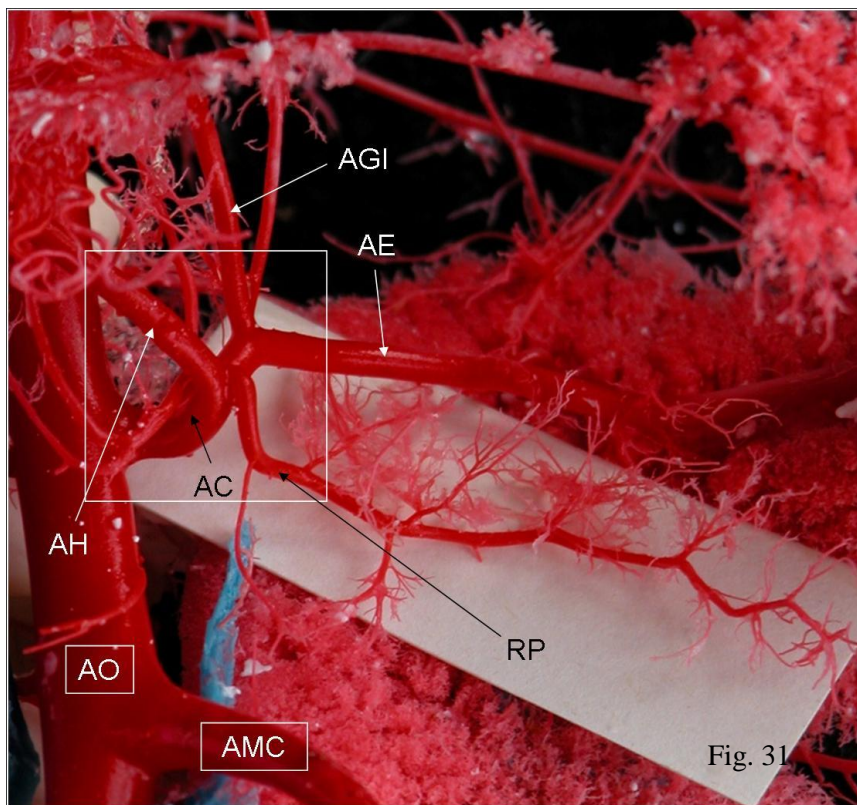
**Figura 28.** Imagen ventral de la región abdominal craneal tras corrosión vascular. La profundidad de la inyección permite identificar el volumen de distintos órganos como el páncreas, bazo, riñones, hígado, etc. Los principales trayectos arteriales y venosos se identifican en relación a dichos órganos.



**Figura 29.** Imagen ventral de los principales vasos en la región abdominal craneal tras corrosión.

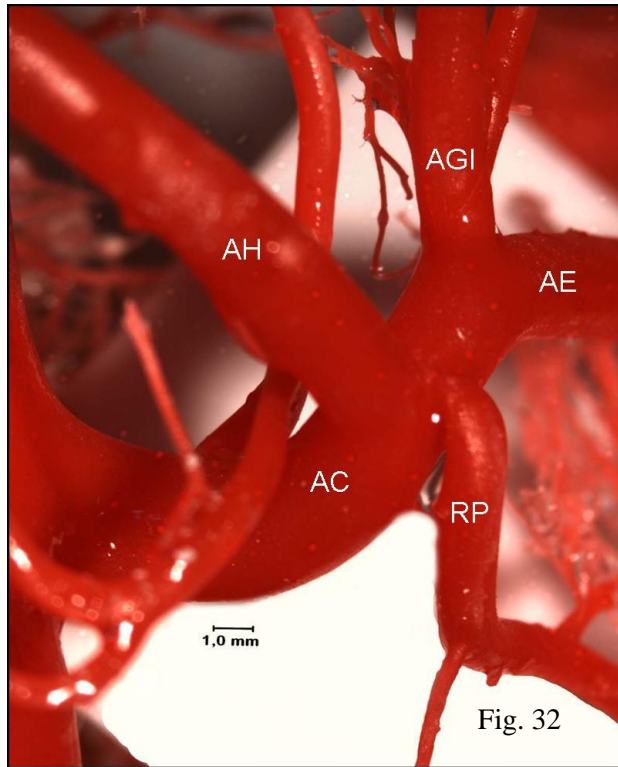


**Figura 30.** Detalle ampliado de la imagen anterior. Se aprecian las arterias responsables de la vascularización de parte del cuerpo y del lóbulo derecho del páncreas.

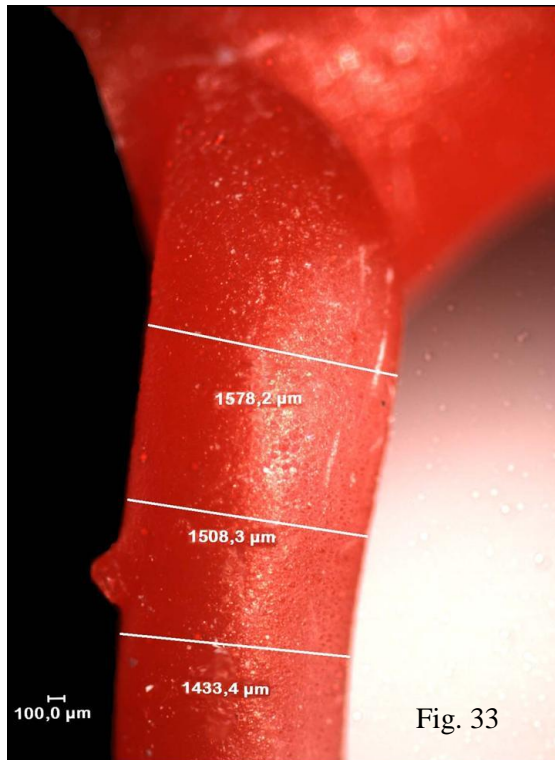


**Figura 31.** Detalle ampliado de la figura anterior. Se identifica el arranque desde la aorta abdominal de las arterias mesentérica craneal y celiaca, así como las arterias hepática y esplénica.

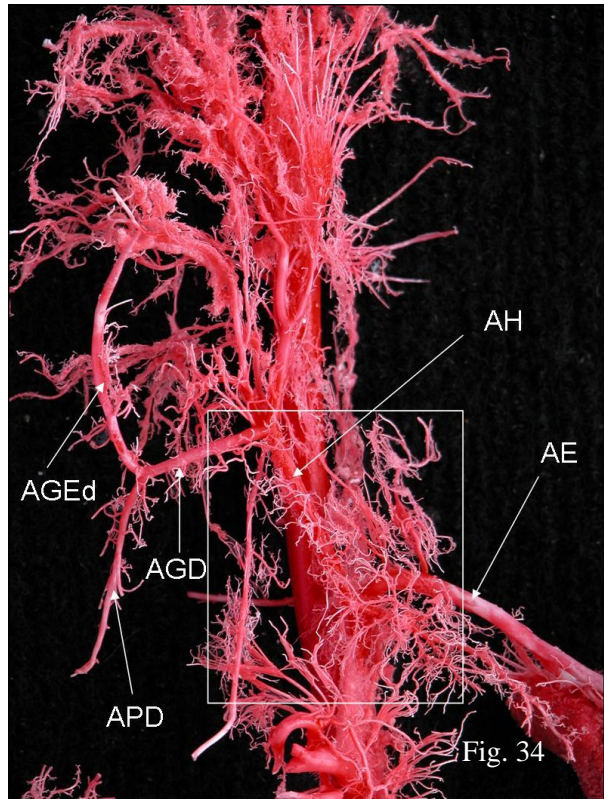




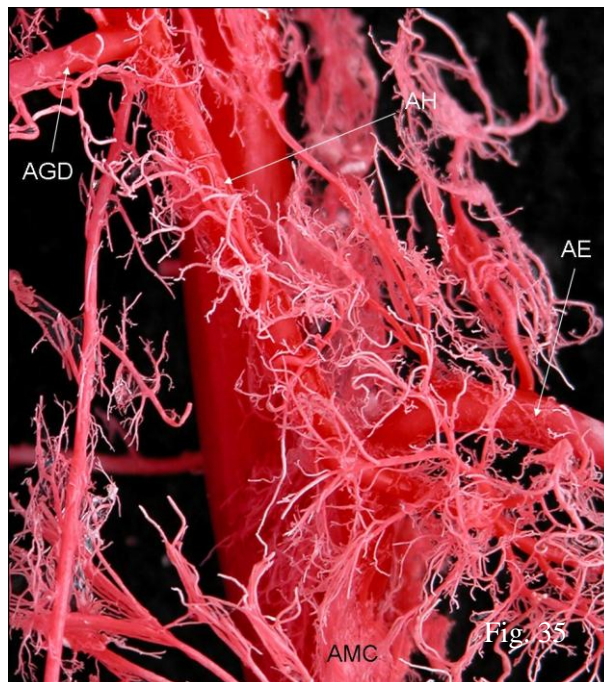
*Figura 32. Detalle ampliado de la figura 31.*



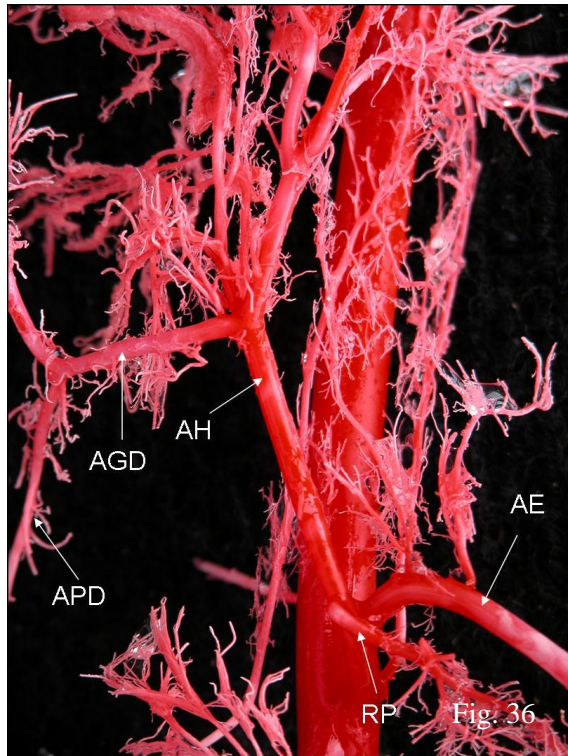
*Figura 33. Imagen correspondiente a la morfometría de la rama pancreática para el lóbulo izquierdo.*



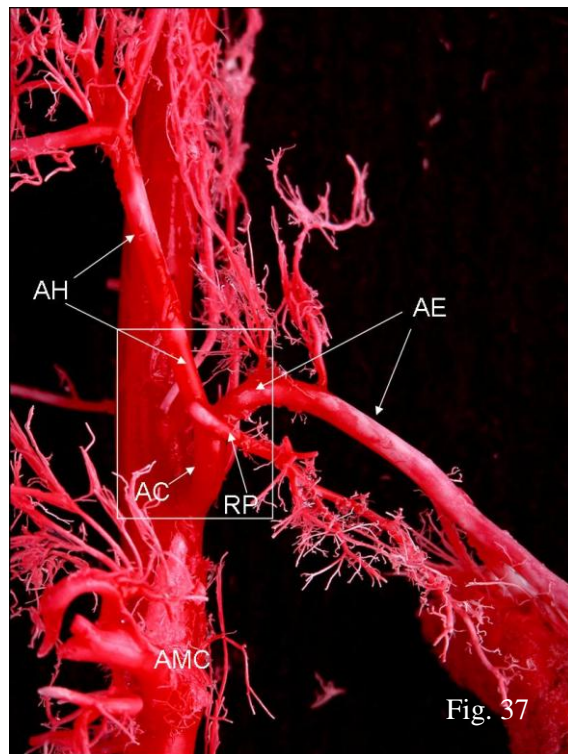
**Figura 34.** Imagen ventral de las principales arterias viscerales del territorio abdominal craneal, tras corrosión



**Figura 35.** Detalle de la imagen anterior. Se aprecian numerosas ramas pancreáticas destinadas principalmente para el cuerpo.



**Figura 36.** Imagen correspondiente a la corrosión de la figura 34 tras sección de las ramas pancreáticas procedentes de las arterias celíaca, hepática y gastroduodenal

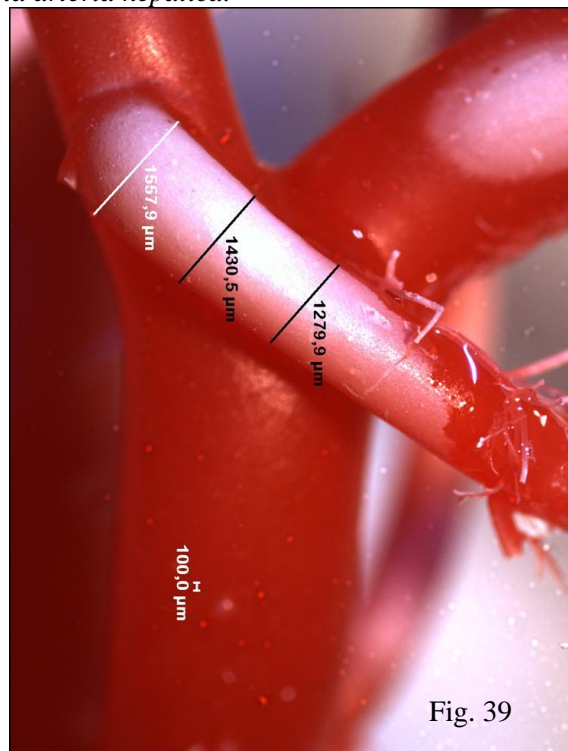


**Figura 37.** Imagen ventral de las principales ramas de la arteria celíaca.



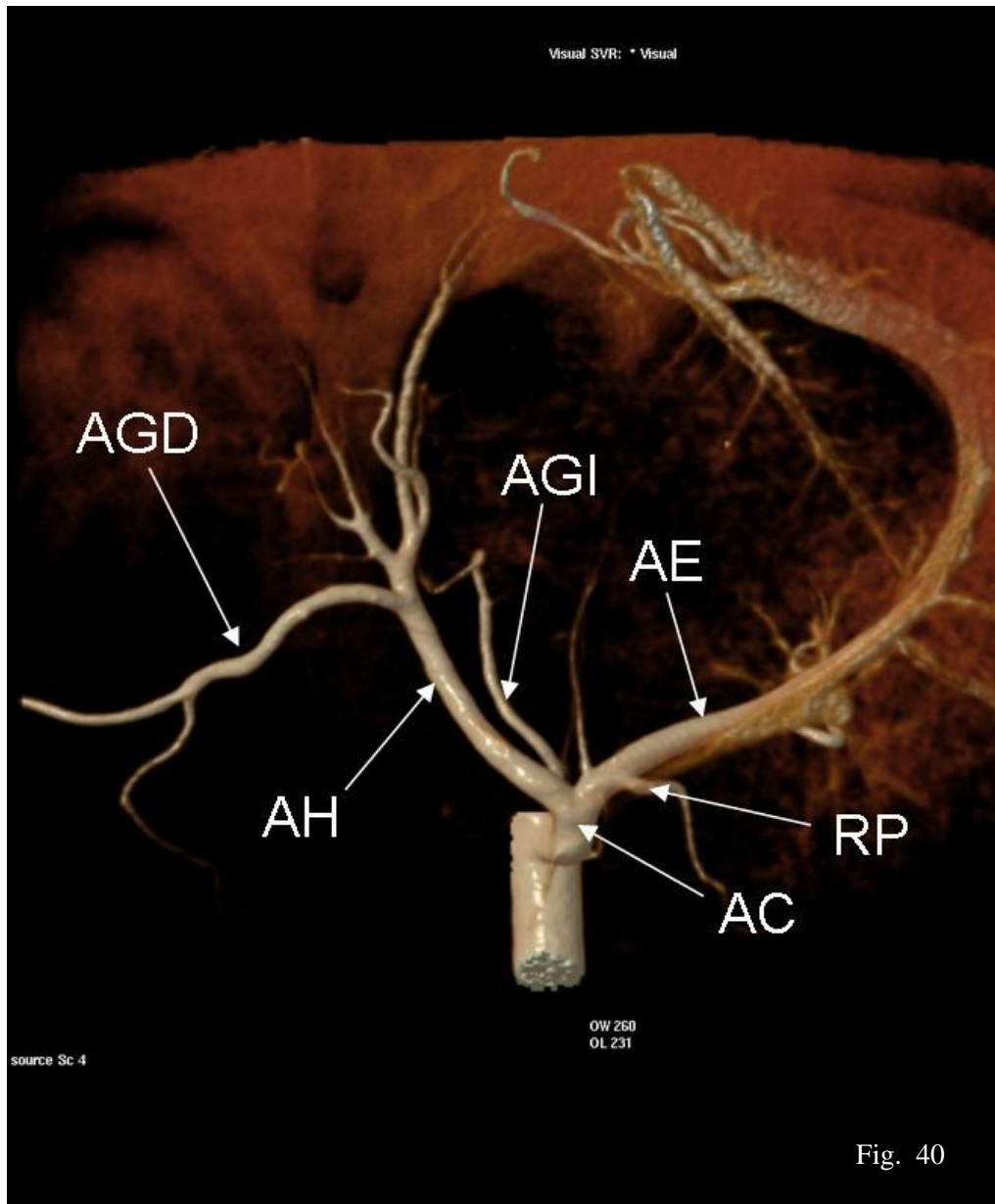


**Figura 38.** Detalle ampliado de la imagen anterior. Se aprecia el trayecto de la arteria celíaca con sus dos ramas, las arterias hepática y esplénica. La rama pancreática para el lóbulo izquierdo se origina de la arteria hepática.

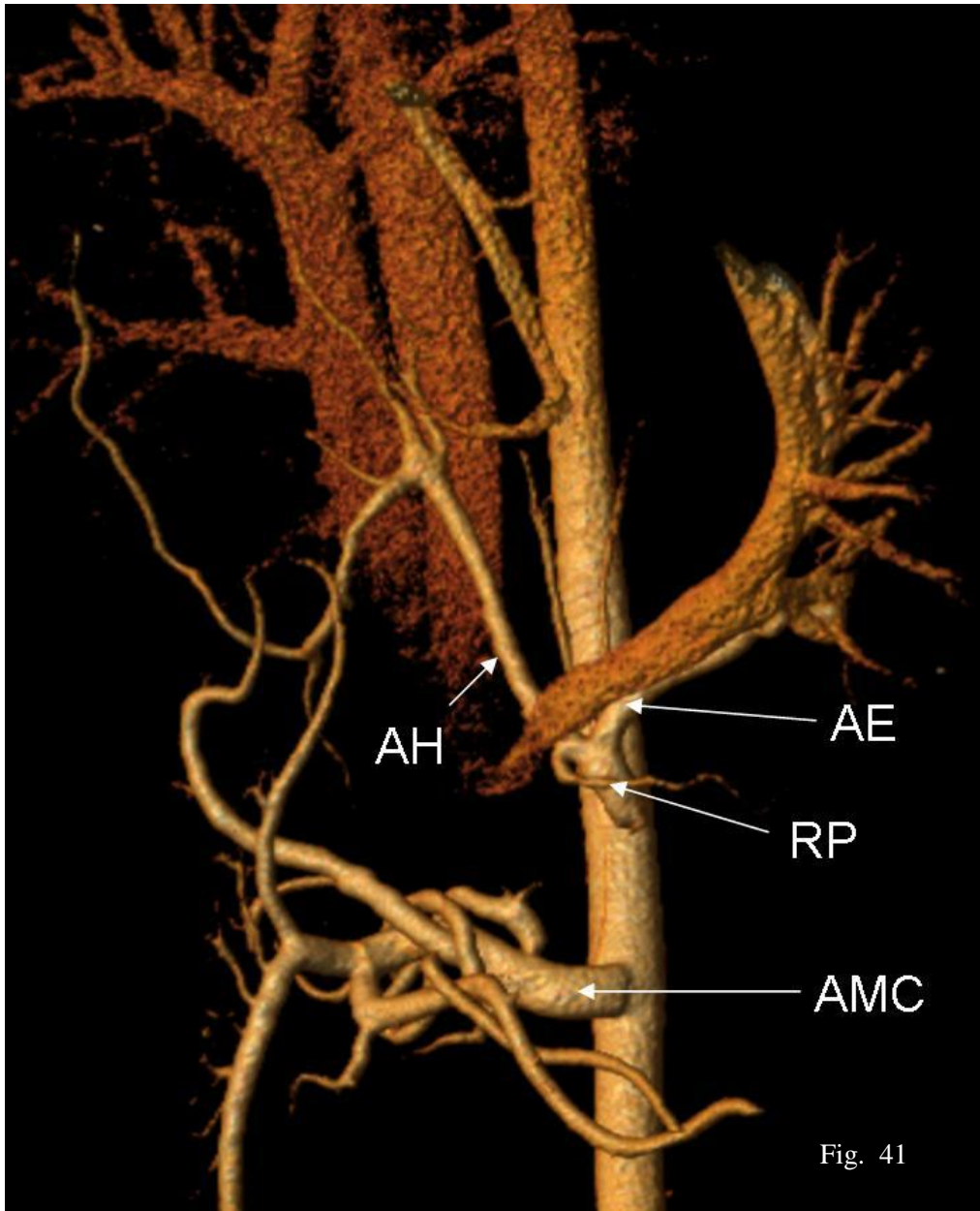


**Figura 39.** Imagen correspondiente a la morfometría de la rama pancreática para el lóbulo izquierdo.

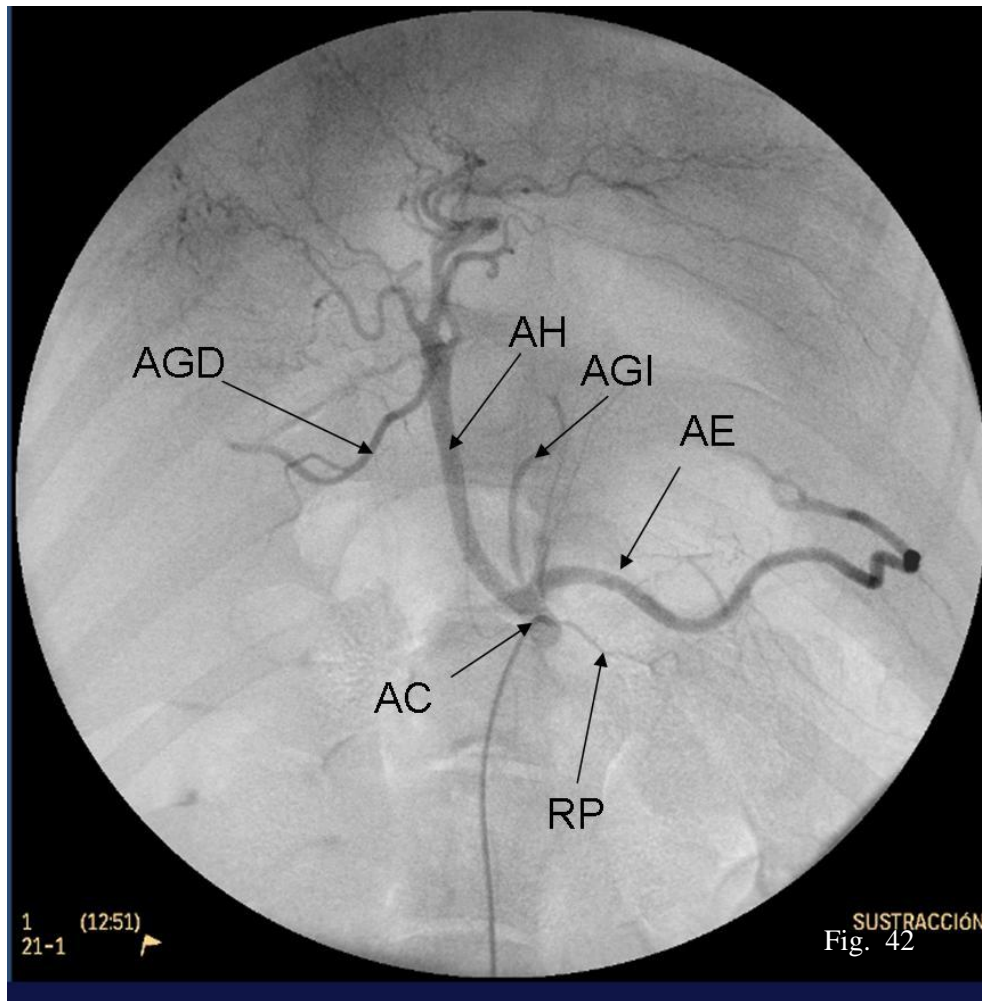




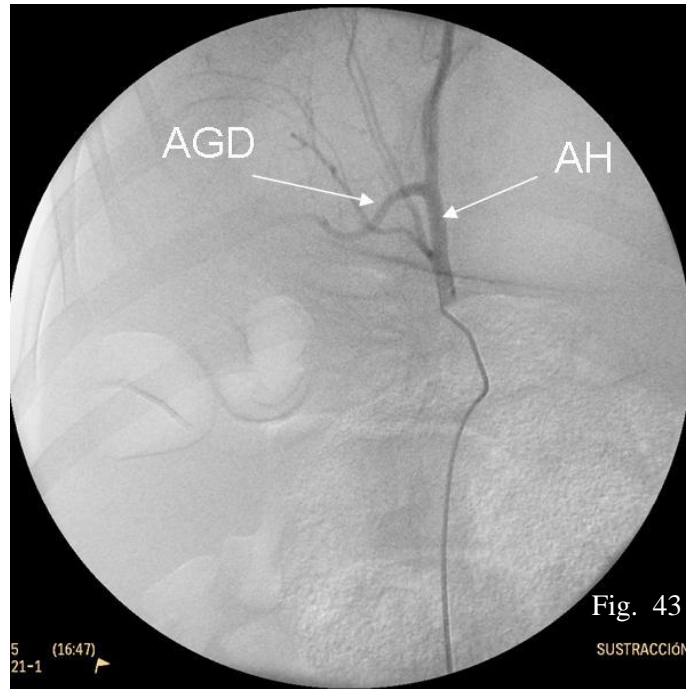
**Figura 40.** Reconstrucción 3D de angiotomografía de la arteria celíaca. Rama pancreática para el lóbulo izquierdo arrancando de la arteria esplénica.



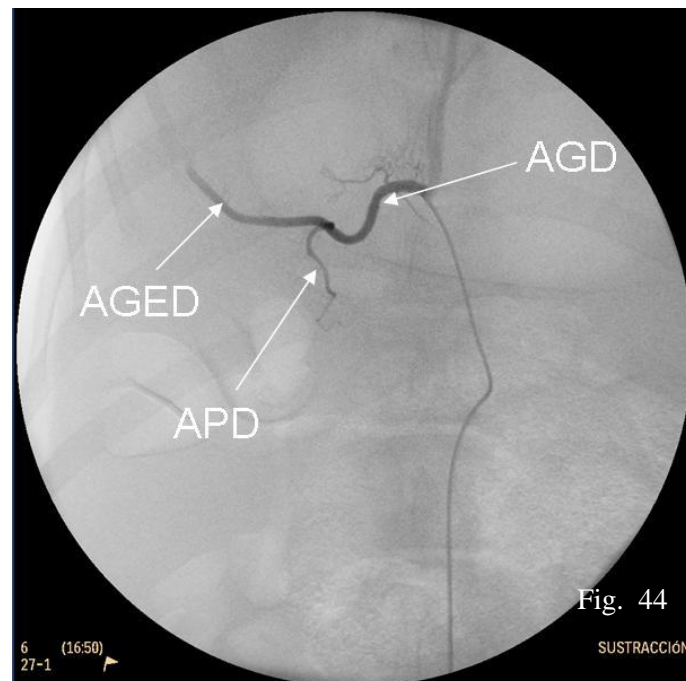
**Figura 41.** Reconstrucción 3D de angiotomografía de la aorta abdominal. La rama pancreática para el lóbulo izquierdo arranca de la arteria hepática.



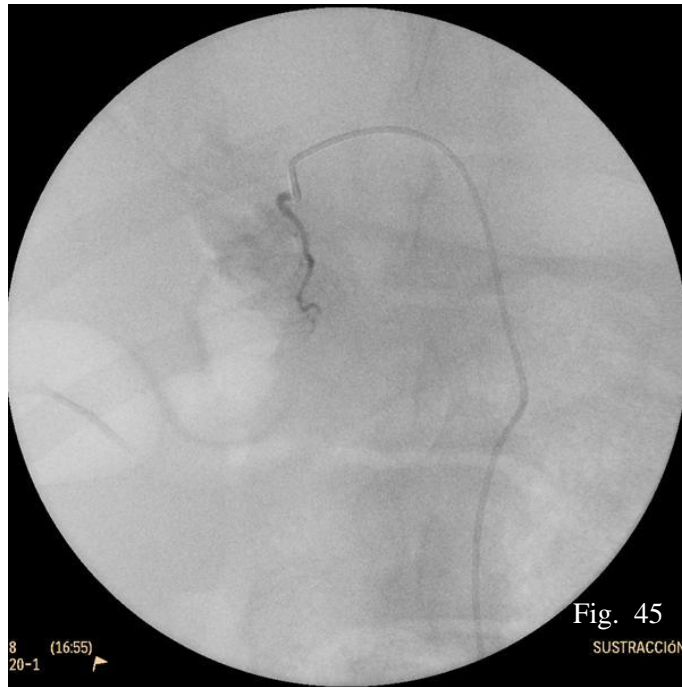
**Figura 42.** Angiografía de la arteria celíaca. Distribución de las principales ramas de las arterias esplénica y hepática. El origen de la arteria celíaca en la aorta abdominal coincide con el tercio craneal del nivel vertebral T15.



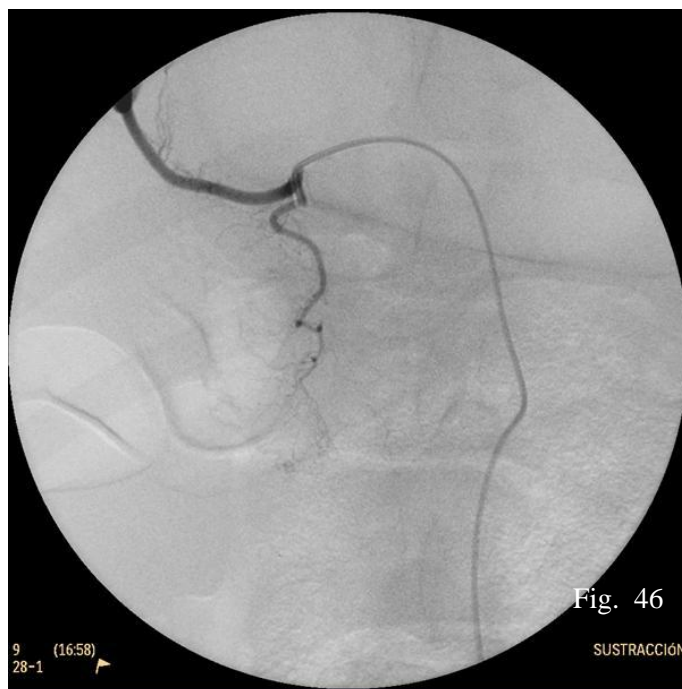
**Figura 43.** Angiografía selectiva de la arteria hepática. El catéter ocupa el lumen de la arteria celíaca y recorre el giro hacia la derecha que da acceso a la arteria hepática.



**Figura 44.** Angiografía superselectiva de la arteria gastroduodenal, rama de la arteria hepática.

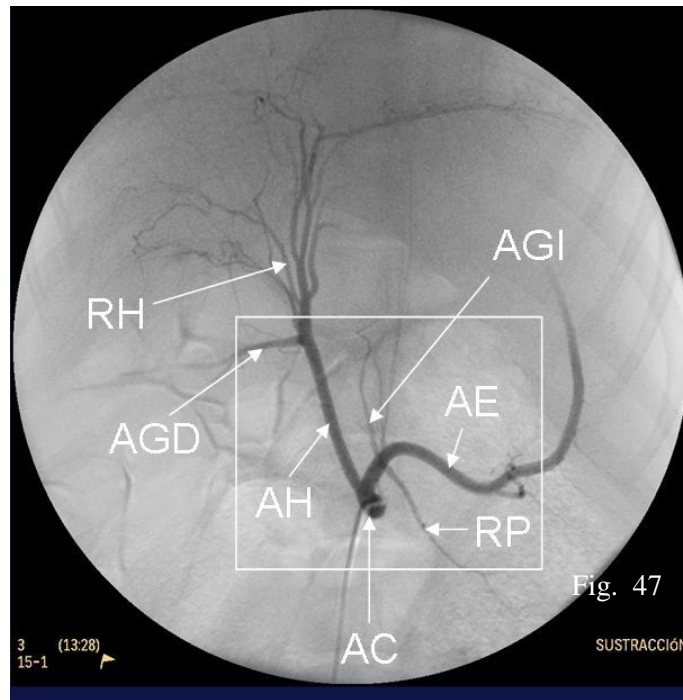


**Figura 45.** Angiografía superselectiva de la arteria pancreaticoduodenal craneal. El contraste ocupa parte del lóbulo derecho del páncreas.

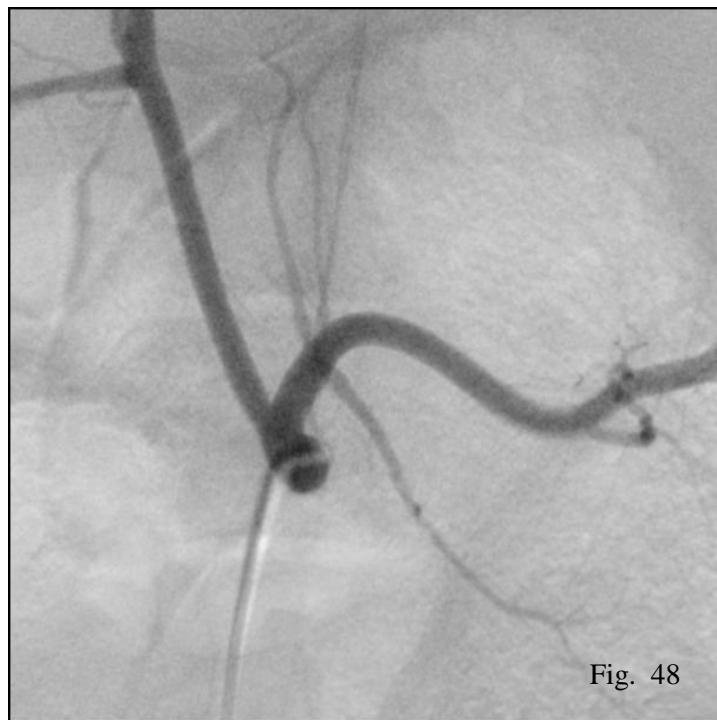


**Figura 46.** Imagen posterior a la figura 45, con refluo de contraste hacia la arteria gastroepiploica derecha.





**Figura 47.** Angiografía de la arteria celíaca. Se identifican las arterias hepática y esplénica con sus principales ramas.

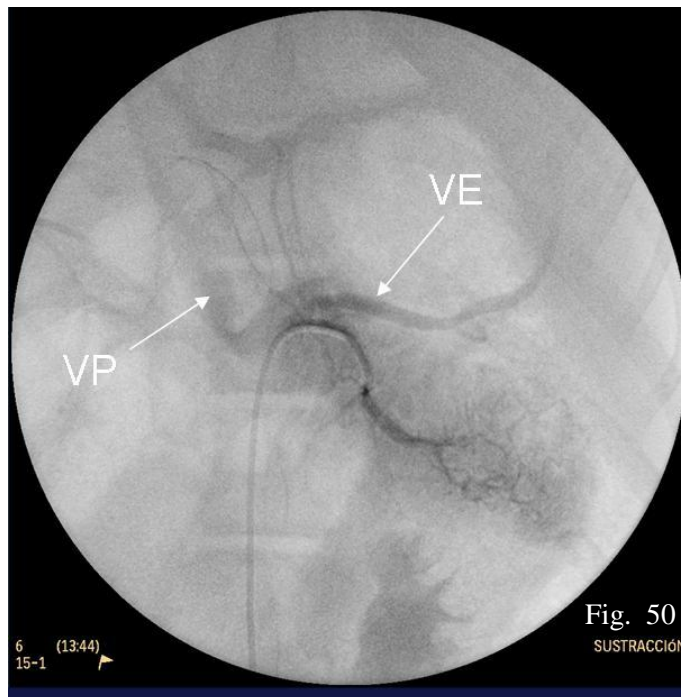


**Figura 48.** Ampliación de la figura 38. Se observa cómo la rama pancreática para el lóbulo izquierdo arranca de la arteria esplénica.

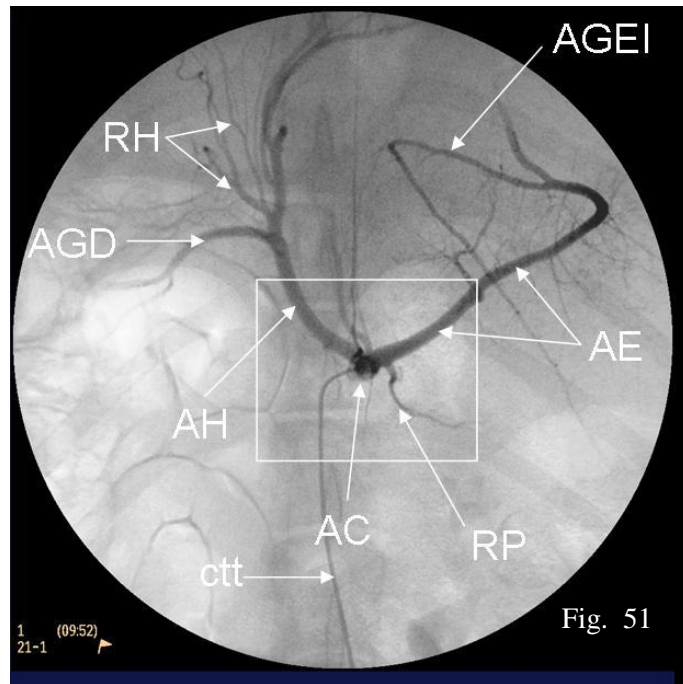




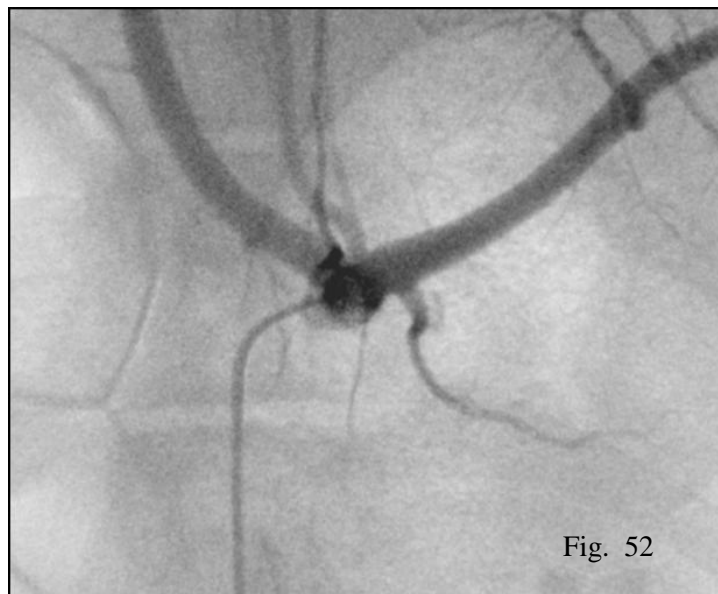
**Figura 49.** Angiografía superselectiva de la rama pancreática para el lóbulo izquierdo. Se aprecia cómo el contraste ocupa el parénquima pancreático.



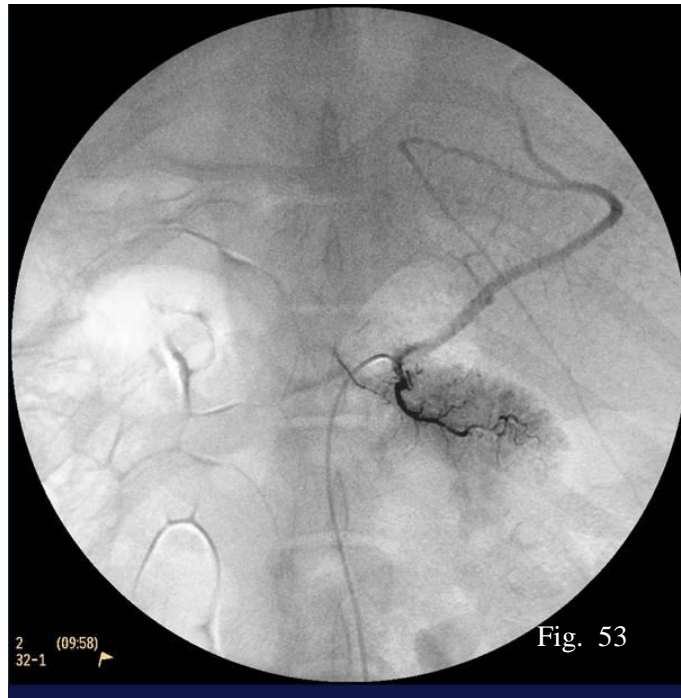
**Figura 50.** Imagen inmediatamente posterior a la de la figura 49. Se observa cómo el contraste pasa a ocupar la vena esplénica, así como la vena porta.



**Figura 51.** Angiografía de la arteria celíaca. Se identifican las arterias hepática y esplénica con sus principales ramas. La arteria celíaca arranca de la aorta abdominal a nivel del tercio caudal de la T14.



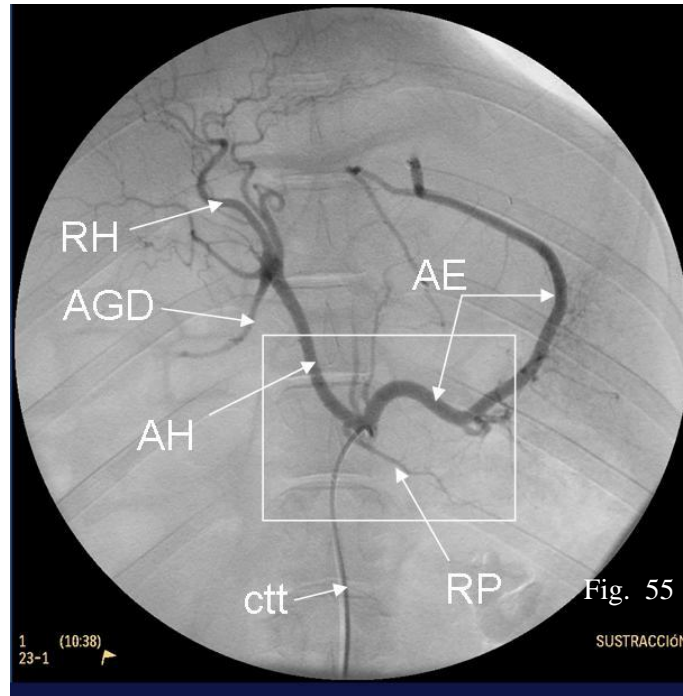
**Figura 52.** Detalle ampliado de la figura 42. Se identifica la zona de arranque de la rama pancreática muy próxima al inicio de la arteria esplénica.



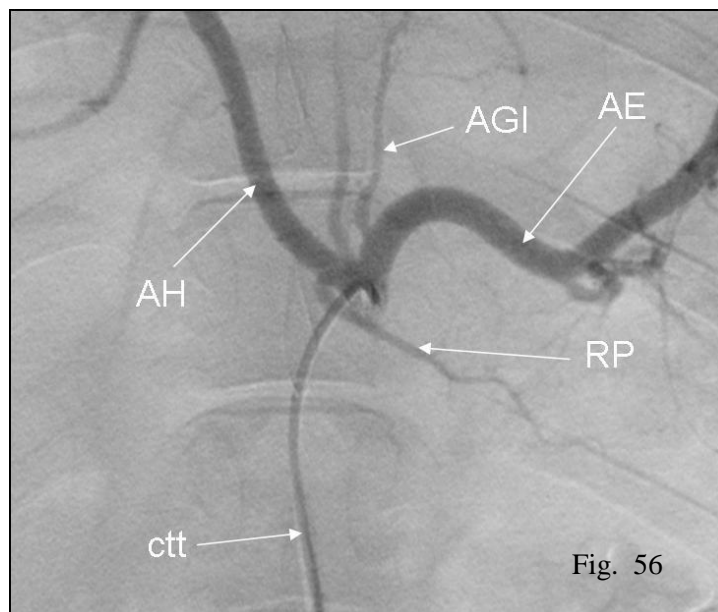
**Figura 53.** Angiografía superselectiva de la rama pancreática.



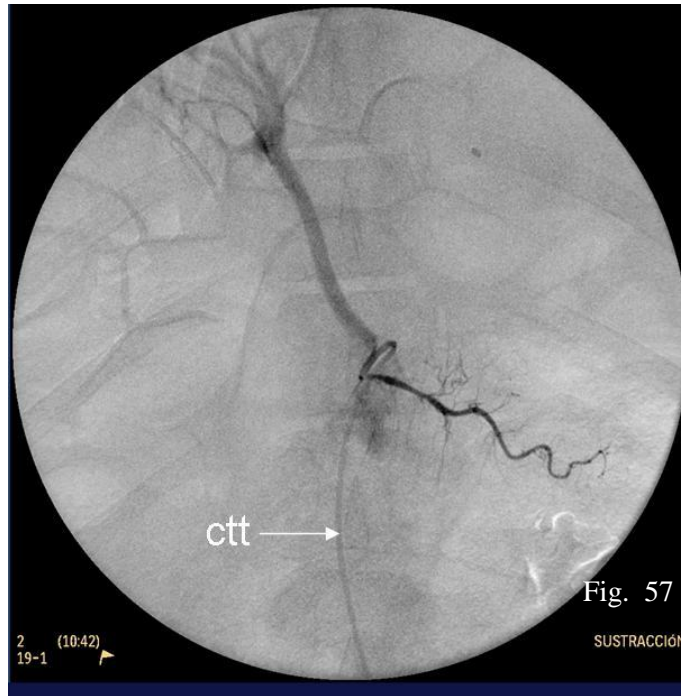
**Figura 54.** Imagen similar a la figura 53 tras la aplicación de sustracción, para destacar la difusión del contraste en el lóbulo izquierdo del páncreas.



**Figura 55.** Angiografía de la arteria celíaca. Su arranque en la aorta abdominal se produce a nivel del cuerpo vertebral T14.



**Figura 56.** Ampliación de la figura 46. Se identifica cómo la rama pancreática tiene su origen en la arteria hepática.

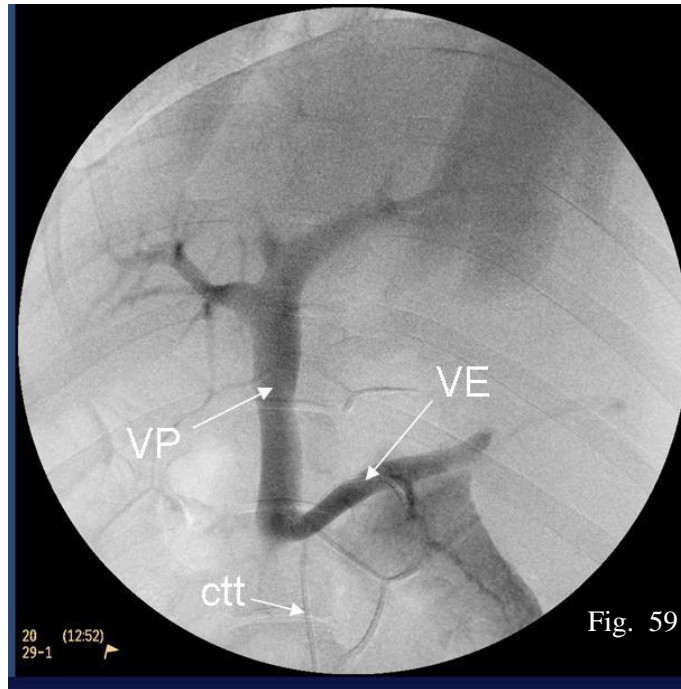


**Figura 57.** Angiografía superselectiva de la rama pancreática.

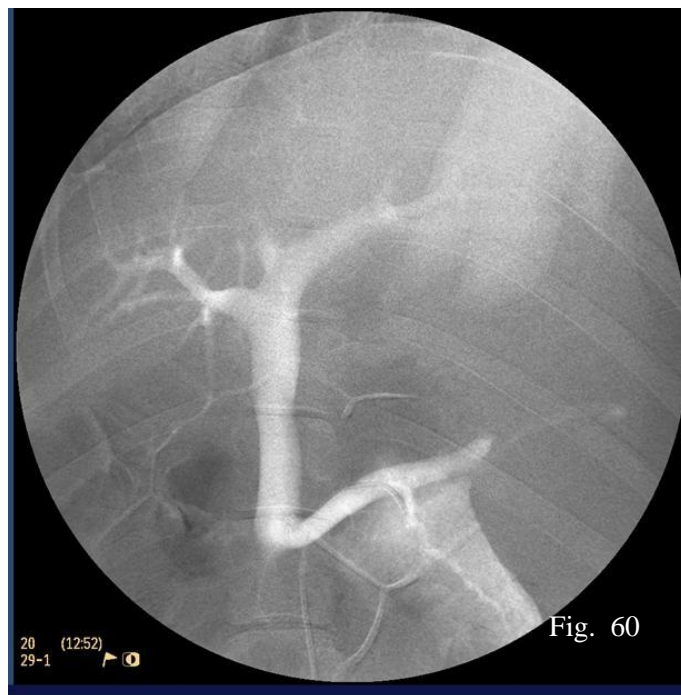


**Figura 58.** Imagen de sustracción sobre la figura 56. Se observa cómo el contraste recorre el lóbulo izquierdo del páncreas.



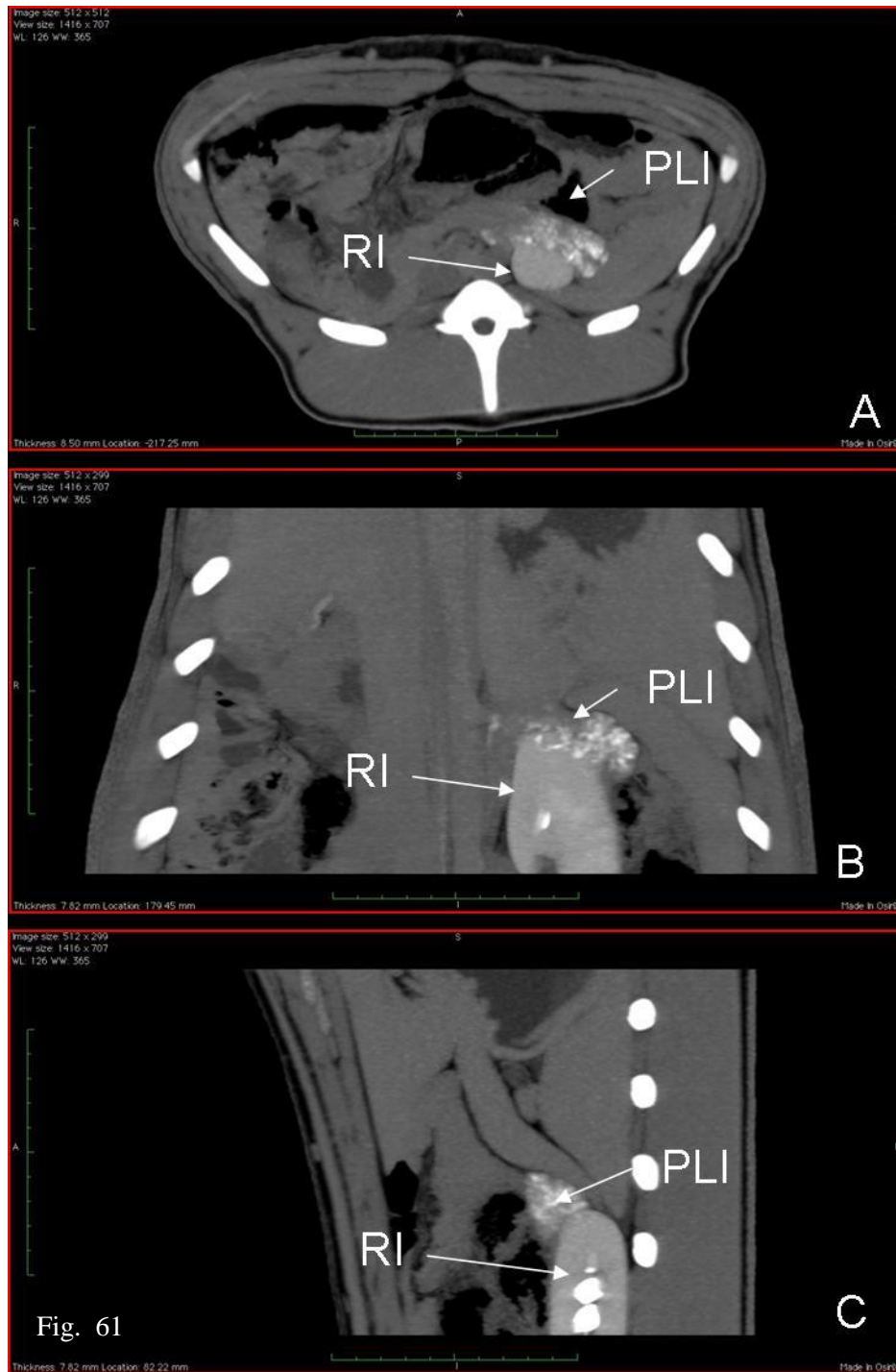


**Figura 59.** Angiografía superselectiva de la rama pancreática de la arteria esplénica. Imagen correspondiente al retorno de contraste desde parénquima pancreático del lóbulo izquierdo hacia la vena esplénica y a la vena porta.



**Figura 60.** Imagen similar a la figura 59 con inversión de contraste para destacar el trayecto de las venas esplénica y porta.





**Figura 61.** Imágenes de TC afectando al lóbulo izquierdo del páncreas en los planos transversal (A), horizontal (B) y sagital (C). Se observa cómo permanece el contraste en dicho lóbulo del páncreas tras la angiografía superselectiva de la rama pancreática.

### **4.3 EVALUACIÓN DE LA VÍA DE ABORDAJE ENDOVASCULAR AL PÁNCREAS PORCINO.**

#### **4.3.1 Resultados obtenidos tras la administración de Hoechst.**

Observación tras el procedimiento:

Durante la administración arterial trascateteral del Hoechst, en la rama pancreática para el lóbulo izquierdo, no hubo complicaciones relacionadas con el procedimiento tales como trombosis, espasmos de la arteria o disección de la intima.

Todos los animales del grupo 2 toleraron bien el procedimiento, sin manifestaciones clínicas de pancreatitis o estrés. Durante los siete días de periodo de observación, tanto la actividad como la ingesta de alimentos fue normal en todos ellos.

Los niveles basales de las enzimas pancreáticas y hepáticas fueron normales en todos los animales. Los resultados se presentan en la siguiente tabla, no encontrándose diferencias significativas entre los niveles medios basales y los obtenidos a los siete días post-procedimiento, para ninguna enzima pancreática o hepática.

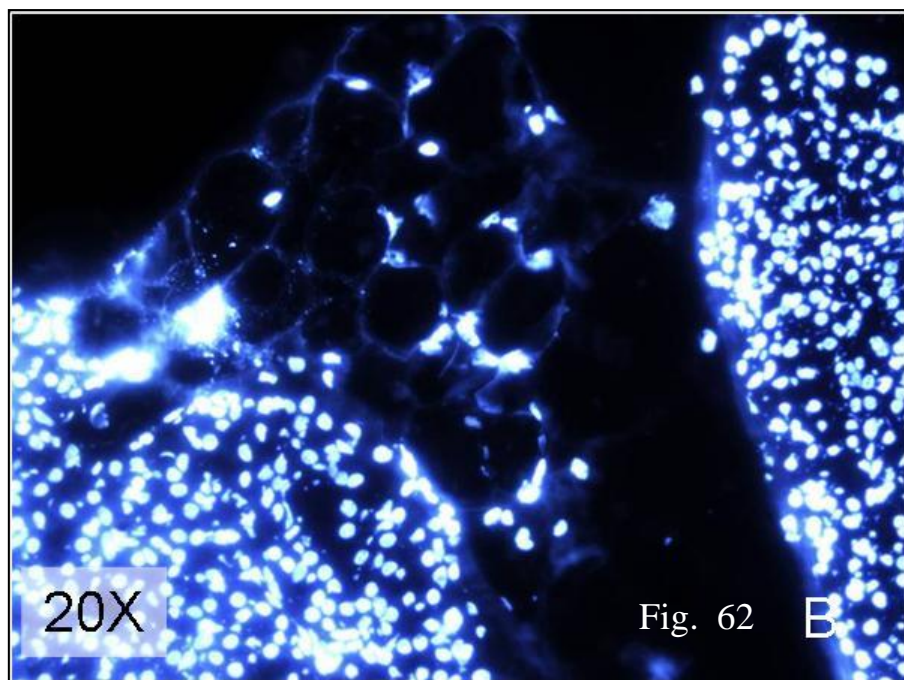
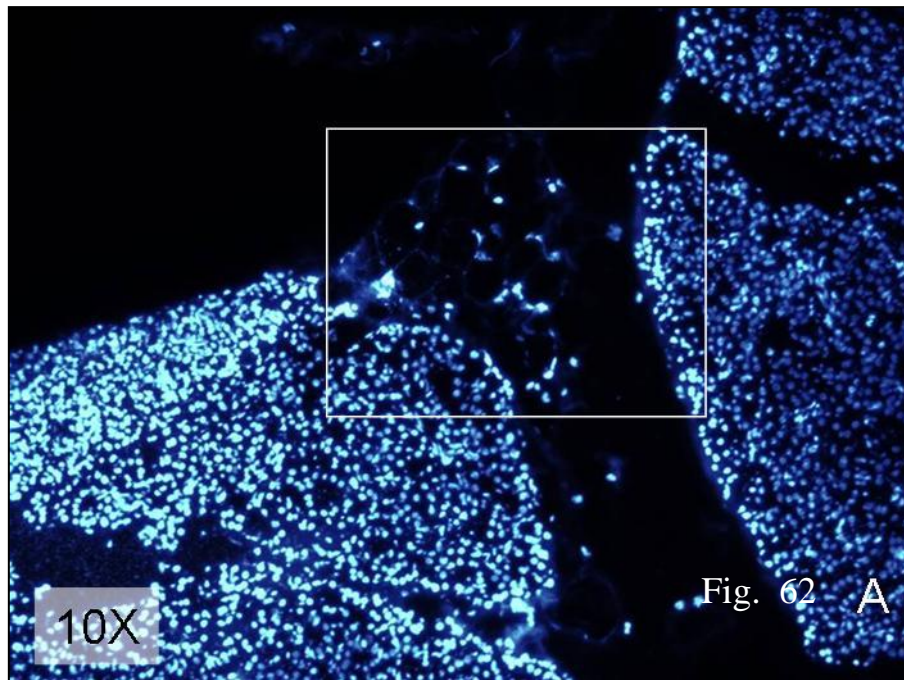
	Basal	7 días	p
Amilasa	1339.34 ± 141.7	1652.24 ± 38.46	0.13
Lipasa	4.64 ± 0.49	6.18 ± 2.24	0.202
CRP	32.86 ± 16.09	58.6 ± 24.06	0.268
ALT	33.1 ± 2.97	35.22 ± 1.36	0.618
AST	29.52 ± 1.4	40.1 ± 5.1	0.16

### **Evaluación histopatológica:**

Durante la necropsia el tejido conectivo superficial del páncreas no presentó evidencia de colección líquida, abscesos o hemorragia.

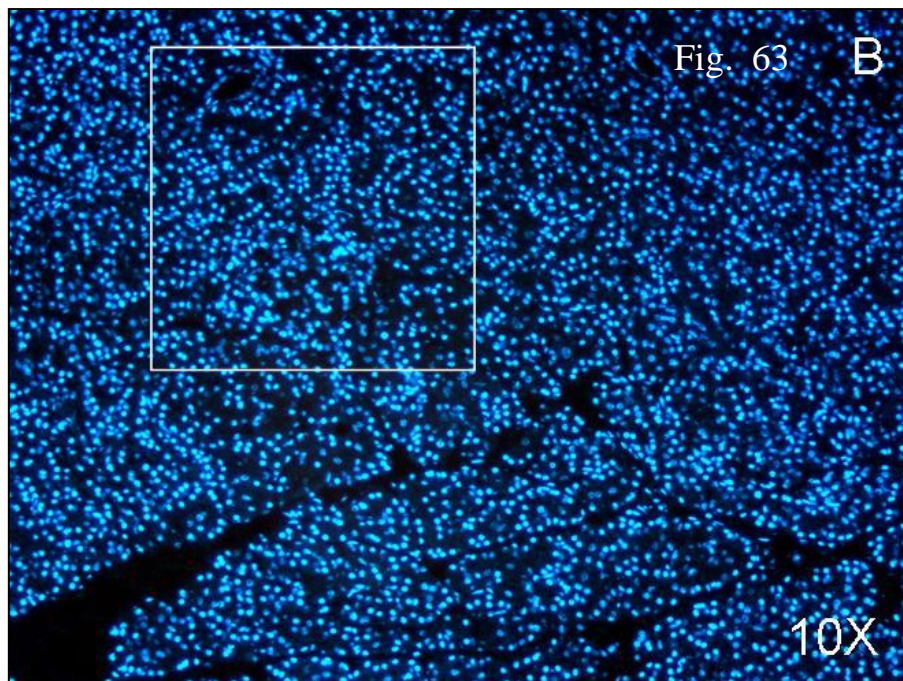
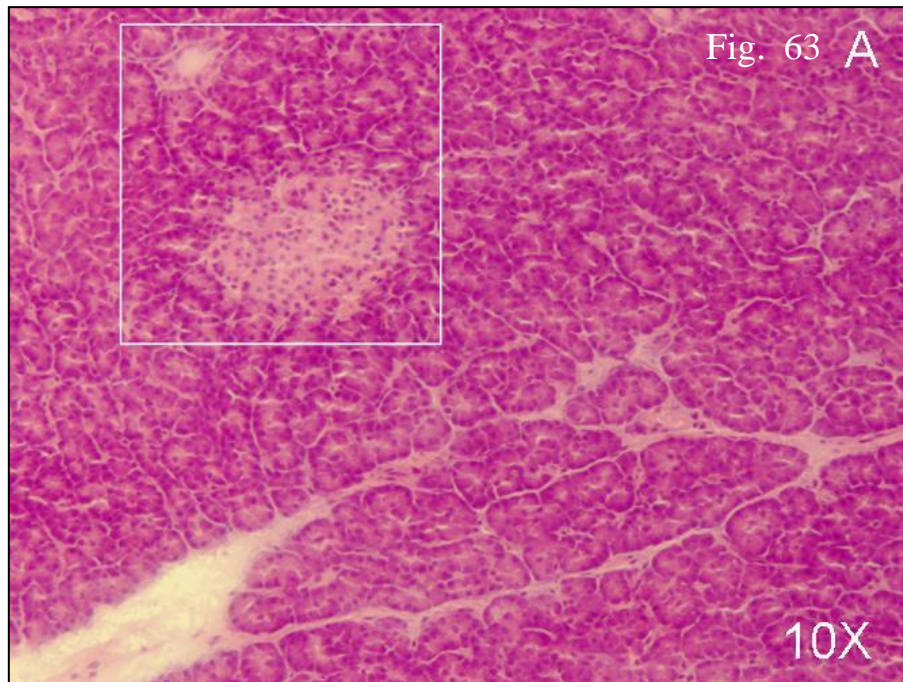
Los resultados del examen histológico del grupo 1 muestran que el colorante Hoechst está presente en los núcleos de las células pancreáticas, afectando su distribución de forma exclusiva al parénquima del lóbulo izquierdo (Fig. 64). Al estudiar campos seriados sometidos a tinción histológica de H-E se puede identificar cómo las células pancreáticas marcadas con Hoechst, pertenecen tanto a tejido exocrino como endocrino (Figs. 64-66). En las muestras pertenecientes al límite entre cuerpo y lóbulo izquierdo del páncreas, la distribución del colorante Hoechst no es uniforme.

El examen histopatológico del páncreas a los siete días en los animales del grupo 2 revela la ausencia de lesiones tanto en parénquima exocrino como endocrino (Fig. 66). No existe evidencia de pancreatitis en ningún animal y el sistema de conductos pancreáticos no presenta alteraciones.



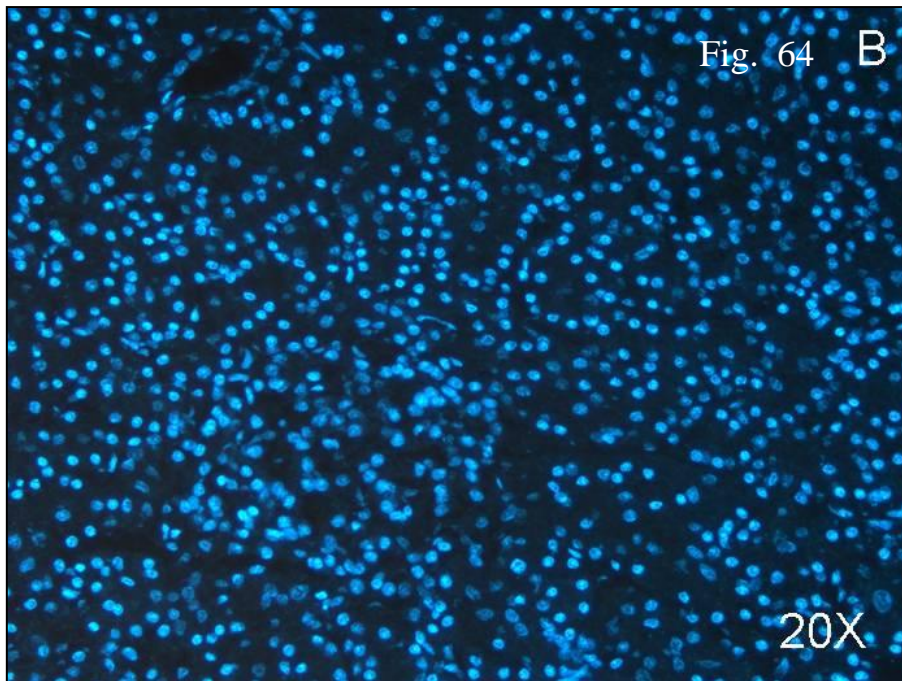
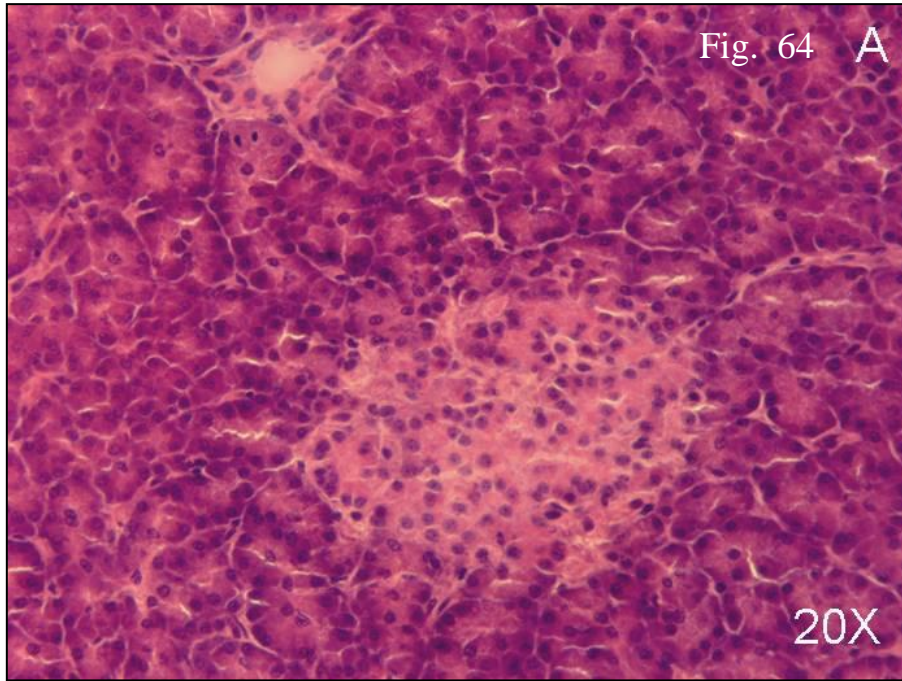
**Figura 62.** Imágenes de microscopía de fluorescencia obtenidas sobre criosecciones del lóbulo izquierdo del páncreas perteneciente al grupo 1 de animales inyectados con el marcador nuclear Hoechst. **A.** Distribución uniforme de células con núcleos marcados. **B.** Detalle ampliado de la imagen A.



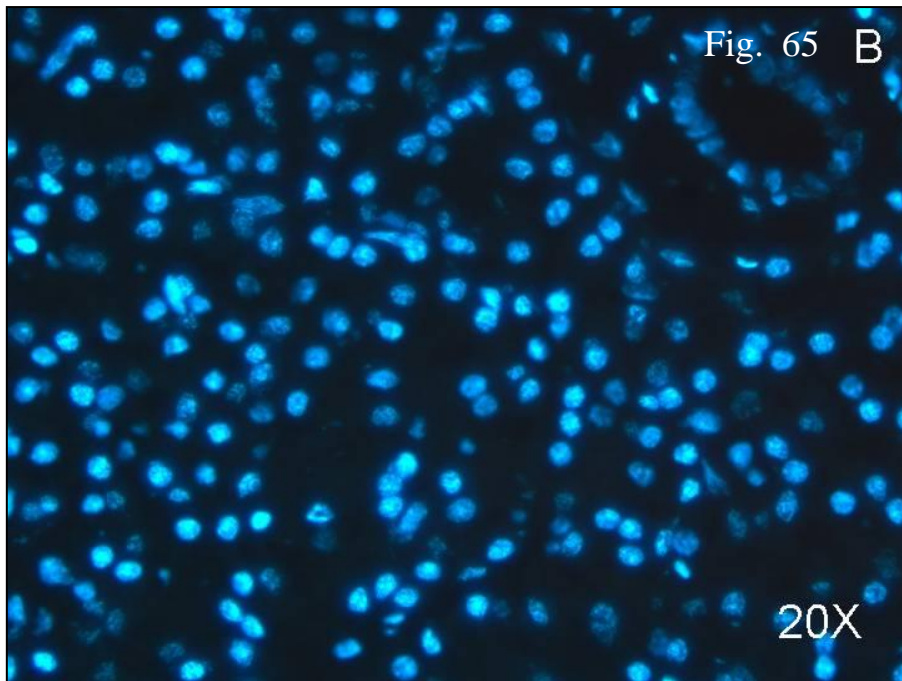
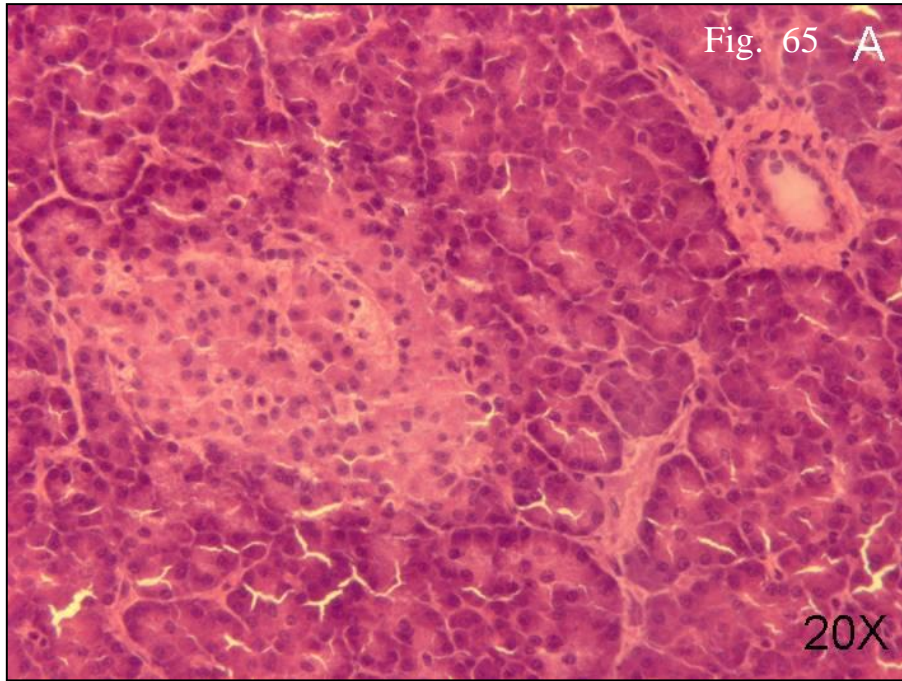


**Figura 63.** Imágenes histológicas del lóbulo izquierdo del páncreas pertenecientes al grupo 1, animales inyectados con el marcador nuclear Hoechst. **A.** Campo histológico de parénquima endocrino y exocrino. **B.** Imagen de microscopía de fluorescencia obtenida sobre criosección seriada a la imagen anterior. La comparación de ambas imágenes permite identificar tanto células endocrinas como exocrinas afectadas por el marcador nuclear.



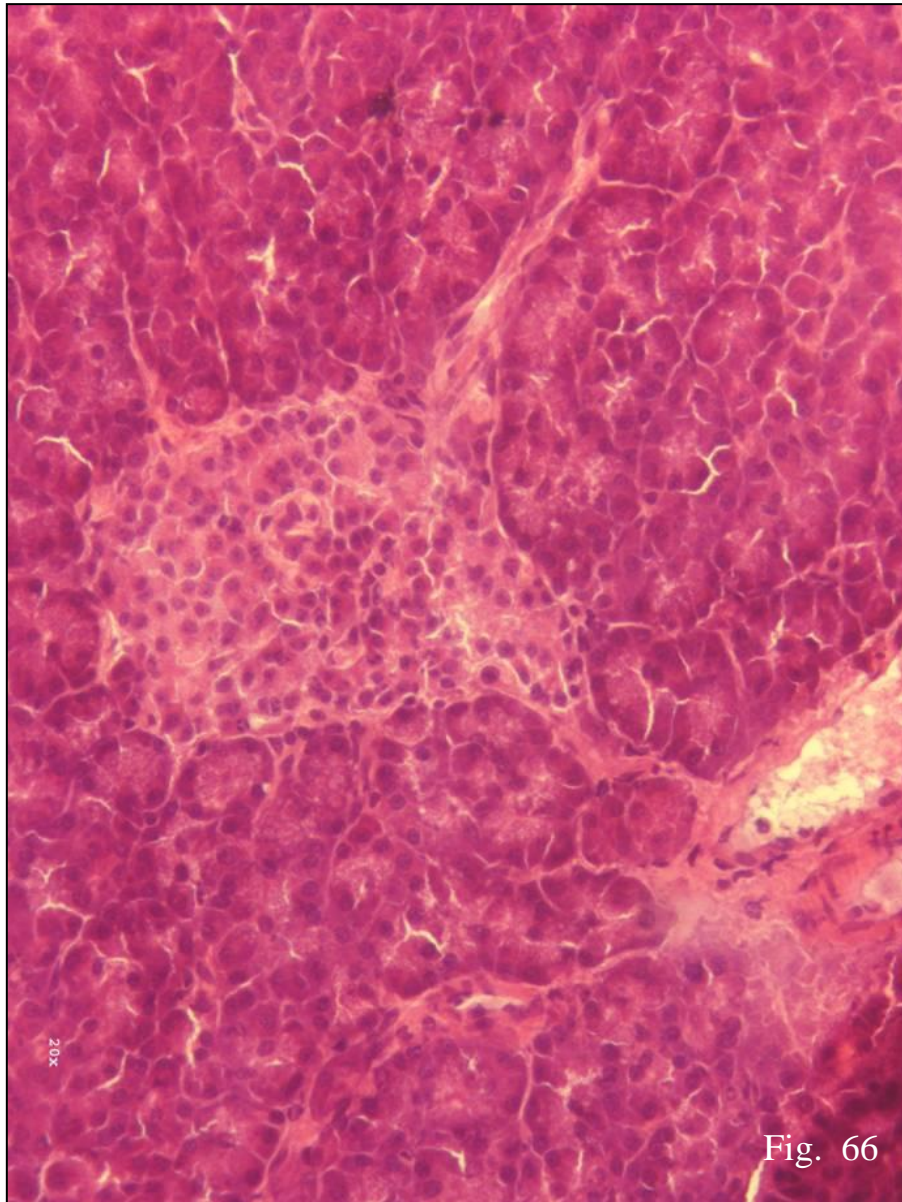


**Figura 64.** Imágenes histológicas del lóbulo izquierdo del páncreas pertenecientes al grupo 1, animales inyectados con el marcador nuclear Hoechst. **A.** Detalle ampliado de la figura 54A, se identifica un islote pancreático junto a un vaso. **B.** Detalle ampliado de la figura 54B. La comparación entre ambas imágenes permite identificar tanto células endocrinas como exocrinas afectadas por el marcador nuclear.



**Figura 65.** Imágenes histológicas del lóbulo izquierdo del páncreas pertenecientes al grupo 1, animales inyectados con el marcador nuclear Hoechst. **A.** Campo histológico de parénquima endocrino y exocrino. **B.** Imagen de microscopía de fluorescencia obtenida sobre crio-sección seriada a la imagen anterior. La comparación de ambas imágenes permite identificar tanto células endocrinas como exocrinas afectadas por el marcador nuclear.





**Figura 66.** Imagen histológica (H-E) del lóbulo izquierdo del páncreas perteneciente al grupo 2, animales inyectados con el marcador nuclear Hoechst y sacrificados a los 7 días. Tanto las células endocrinas como las exocrinas mantiene su aspecto normal.

## 5 DISCUSIÓN

El empleo de modelos animales constituye una herramienta esencial para la investigación y desarrollo de terapias génica y celular como tratamientos efectivos de la diabetes (Larsen et al. 2002; Tal et al. 2004). Los roedores han sido ampliamente utilizados para su estudio, pero no reflejan la respuesta propia de los mamíferos superiores ante diferentes tratamientos (Tal et al. 2004, Loiler et al. 2005). Por lo tanto, el empleo de animales superiores como modelos en investigación preclínica supone un valioso complemento a los resultados obtenidos en roedores. El cerdo ha sido considerado como un modelo ideal, ya que muchos de sus sistemas orgánicos así como sus respuestas fisiológicas y fisiopatológicas son muy similares a las de la especie humana (Troisi et al. 1997; Larsen et al. 2002). Es por ello que numerosos estudios experimentales sobre enfermedades pancreáticas emplean el cerdo (Kyriakides et al. 1979, Shokouh-Amiri et al. 1989, Troisi et al. 1997, Troisi et al. 1998, Troisi et al. 2000, Aslanian et al. 2005) como modelo animal por su mayor similitud a la especie humana que cualquier otra especie de laboratorio (Shokouh-Amiri et al. 1989, Troisi et al. 1997, Ayuso et al. 2006). Buena parte de estos estudios están relacionados con transplantes de páncreas, empleando

abordajes quirúrgicos clásicos (Kyriakides et al. 1979, Shokouh-Amiri et al. 1989, Troisi et al. 1997, Troisi et al. 1998, Troisi et al. 2000).

La obtención y terapia de cuadros de diabetes y/o pancreatitis en experimentación animal ha sido referida mediante cirugía convencional (Kyriakides et al. 1979; Florack et al. 1983 y Ayuso et al. 2006), mediante técnicas endovasculares (Tal et al. 2004) o mediante técnicas endoscópicas (Aslanian et al. 2005). Sin embargo, a pesar de ello existen pocos estudios descriptivos sobre la anatomía del páncreas porcino, lo que supone un factor limitante (Ferrer et al. 2008). Un conocimiento más profundo sobre la anatomía del páncreas porcino resulta esencial para mejorar los protocolos en el aislamiento de islotes pancreáticos (Taylor et al. 2008, Scott et al. 2008), así como para mejorar los resultados en la aplicación de la terapia génica selectiva.

### **Anatomía Topográfica:**

El páncreas en el cerdo es aplanado dorsoventralmente y constituido por un cuerpo y dos lóbulos derecho e izquierdo (Shaller 1996; Dyce et al. 1999; Sandoval 2000; Climent et al. 2005), más o menos diferenciables. Presenta dos caras (dorsal y ventral) y cuatro bordes (craneal, caudal, derecho e izquierdo) (González et al. 1949; Shaller 1996). No obstante, se han descrito conformaciones del páncreas porcino distintas a la propuesta por la Nomenclatura Anatómica Veterinaria. Así, hay autores que lo dividen en lóbulo derecho, lóbulo izquierdo, lóbulo medio y lóbulo de unión (Skjennald 1982). Otros

autores, basándose en la nomenclatura humana, dividen el páncreas porcino en cabeza, cuerpo y cola (Gänger et al. 1987; Kumagai et al. 2002). Más recientemente, el páncreas porcino ha sido sistematizado en un lóbulo esplénico (correspondiente al cuerpo y la cola del páncreas), un lóbulo duodenal (correspondiente a la cabeza del páncreas) y un lóbulo conector (correspondiente a la apófisis uncinada y se proyecta hacia la parte ventral de anillo) (Ferrer et al. 2008).

La posición retroperitoneal del cuerpo y parte de los lóbulos derecho e izquierdo del páncreas porcino, descrita en este trabajo, es una de las características diferenciales respecto al resto de mamíferos domésticos y lo convierten en el modelo animal más parecido a la especie humana. Esta posición retroperitoneal ya ha sido referida previamente (Traverso & MacFarlane 1987, Morel et al. 1991, Ferrer et al. 2008). Si bien, estos autores no aportan datos precisos sobre qué partes del páncreas son las afectadas por esta topografía y cuál es su extensión. Otros autores no refieren la topografía retroperitoneal e indican, de forma genérica, que gran parte del páncreas está rodeada de grasa y que puede quedar cubierta por serosa en la vecindad del duodeno, haciendo referencia al mesoduodeno (Dyce et al. 1999; Getty 2001). La topografía del páncreas, entre las porciones craneal y descendente del duodeno, previamente descrita (Sandoval 2000), coincide con nuestros resultados sobre la parte más superficial del lóbulo derecho y cuerpo de páncreas.

El cuerpo se dispone sobre la curvatura menor del estómago (Nickel et al. 1979) y la parte craneal del duodeno (Nickel et al. 1979, Shively 1993, Shaller



1996, Sandoval 2000, Climent et al. 2005). Esta ubicación la hemos comprobado mediante disección, pero han sido las secciones seriadas del abdomen las que han puesto de manifiesto esta topografía, así como la extensión craneocaudal coincidente con el nivel vertebral T14. El cuerpo es muy amplio a diferencia de otras especies, encontrándose perforado oblicuamente por el llamado anillo pancreático (anulus pancreatis) que da acceso a la vena porta (González et al. 1949, Nickel et al. 1979, Shively 1993, Shaller 1996, Sandoval 2000). La ausencia de unos límites precisos entre el cuerpo y los lóbulos derecho e izquierdo dificulta la división objetiva de los mismos. Por otra parte, no hemos encontrado referencias anatómicas sobre qué estructuras limitan la topografía del cuerpo del páncreas. La relación del cuerpo con la raíz del mesenterio, descrita por algunos autores (Getty 2001), no la hemos podido observar en las disecciones ni en las secciones plastinadas, sin embargo han sido el colon transversal y el lóbulo izquierdo los que han mostrado una relación directa con la raíz del mesenterio. Por el contrario, la cara ventral del cuerpo pancreático se presenta unida al mesocolon, tal y como han indicado otros autores (Ferrer et al. 2008)

El lóbulo izquierdo es casi circular y bastante desarrollado, alcanza el 70% del peso total del páncreas (Ferrer et al. 2008). Se encuentra relacionado con la porción izquierda del estómago, la extremidad dorsal del bazo, el polo craneal del riñón izquierdo, el colon transversal y la base del colon ascendente (Nickel et al. 1979, Dyce et al. 1999; Climent et al. 2005, Ferrer et al. 2008). Nuestros resultados aportan la topografía parcialmente retroperitoneal de este lóbulo, su relación con la glándula adrenal izquierda y con los vasos esplénicos,

localización similar a la descrita para la cola del páncreas en la especie humana (Asencio et al. 2003).

El lóbulo derecho es ancho y corto (Krahmer and Shrodor 1976, Nickel et al. 1979, Shively 1993), quedando unido a la flexura craneal del duodeno y es en esta zona por donde su conducto desemboca al intestino (González et al. 1949; Getty 2001). Estas descripciones coinciden con los datos obtenidos de las disecciones y de las secciones analizadas. Sin embargo, en la mayoría de las disecciones el lóbulo derecho se presentó dividido en dos porciones, una más superficial dispuesta en el mesoduodeno y otra profunda que contacta con la cava caudal y con el riñón derecho. Esta forma en C del lóbulo derecho del páncreas porcino ha sido referida por otros autores, quienes indican su relación con tres porciones del duodeno (Ferrer et al. 2008). La proyección del lóbulo derecho de craneal a caudal ha sido considerada por distintos autores, quienes indican que cranealmente está en contacto con el hígado y caudalmente puede llegar a alcanzar el polo craneal del riñón derecho (Nickel et al. 1979, Dyce et al. 1999). Entre el duodeno y el páncreas discurren los vasos pancreaticoduodenales de los que parten ramas para irrigar ambos órganos. La relación con los vasos es tan estrecha que, en ocasiones, para realizar una pancreatometomía parcial derecha es necesario extirpar la parte del duodeno relacionada con la porción del páncreas en cuestión (Climent et al. 2005).

## **Histología:**

El reciente éxito de los xenotransplantes de islotes porcinos en primates con diabetes, ha demostrado el potencial de este tipo de terapia (Hering et al. 2006, Cardona et al. 2006). Los avances en el estudio de la anatomía macroscópica y microscópica del páncreas porcino permitirán mayor eficacia en la obtención del órgano, en su conservación y en el aislamiento de un mayor número de islotes pancreáticos (Ferrer et al. 2008).

En la bibliografía consultada se ha dedicado una especial atención a la porción endocrina del páncreas, en concreto a la distribución y tamaño de los islotes pancreáticos. En humana se ha descrito que el tamaño de los islotes es variable y que son más numerosos en la cola del páncreas (Wischnitzer 1980, Wheeler et al. 1987) y en la periferia del órgano (Escolar et al 1974).

En la especie porcina se han descrito diferencias entre razas en cuanto al tamaño y número de islotes pancreáticos (Kirchhof et al. 1994, Ulrich et al. 1995). Estos autores estudiaron animales de diferentes razas: Large White, Landrace, Pietrain, Duroc, Hampshire y cerdos salvajes. En ellas compararon la frecuencia de islotes por unidad de área. Los resultados indican que los animales de razas de crecimiento rápido como Large White y Landrace presentan mayores proporciones de islotes, alcanzando en esta última raza valores de hasta el 3.4% del parénquima pancreático, el doble que en otras razas. Las diferencias pueden deberse a mayores niveles de hormona del crecimiento en ellas. En nuestro estudio la raza empleada ha sido Large White

y los resultados llegaron a alcanzar porcentajes de páncreas endocrino similares a los descritos por estos autores, si bien la media fue menor, alrededor del 2%.

Creemos que existe una gran diferencia entre la metodología empleada en las referencias bibliográficas sobre la proporción del parénquima endocrino (Kirchhof et al. 1994, Ulrich et al. 1995) y la contemplada en nuestro trabajo. Los referidos artículos se basan en un número muy escaso de muestras, apenas cinco muestras; sin embargo, en nuestro trabajo se han obtenido un total de entre 20 y 25 muestras por páncreas. Esta diferencia puede ser el motivo por el que no se refieren datos acerca de la distribución del parénquima endocrino por zonas (cuerpo y lóbulos), tal y como se presentan en nuestro trabajo. El estudio de más de 3000 islotes pancreáticos nos ha permitido analizar su distribución en nueve zonas distintas, tres por cada lóbulo y cuerpo. Los resultados nos indican una mayor proporción de islotes en el lóbulo derecho del páncreas, aunque sin diferencias significativas entre las tres porciones de dicho lóbulo.

El tamaño de los islotes pancreáticos es importante para el éxito de su aislamiento (Krickhahn et al 2002) y, tal y como indican algunos autores, depende de la raza. El valor medio para el diámetro de los islotes se ha determinado en  $132.3\mu\text{m}$  para el grupo de razas citadas anteriormente (Kirchhof et al 1994); sin embargo, en los páncreas de raza Large White esta media se elevó a  $149.3\mu\text{m}$ . En nuestro estudio se han controlado los tamaños de los islotes, pero hemos preferido cuantificar el área, expresada en  $\mu\text{m}^2$ , que

alcanza valores entre 5513 para el cuerpo, 5734 para el lóbulo izquierdo y 5997 para el lóbulo derecho. El tamaño medio de los islotes para el lóbulo derecho es mayor que en el resto del páncreas. Si bien los tamaños de los islotes para una misma porción pancreática no presentó diferencias.

A pesar de encontrar mayor número de islotes por unidad de área y del mayor tamaño en el lóbulo derecho que en el resto del páncreas, los valores porcentuales referidos al total del órgano no presentan diferencias significativas a favor del lóbulo derecho. En todo el páncreas los valores de parénquima endocrino suponen porcentualmente entre el 1,92 y el 2,08%.

### **Anatomía Seccional:**

La tecnología de imagen basada en la tomografía computarizada (TC) y la resonancia magnética nuclear (RM) se encuentra en una fase de gran expansión, gracias en parte al desarrollo de nuevos marcadores moleculares que permiten la obtención de imágenes sumamente sofisticadas en tiempo real. Sus aplicaciones abarcan desde el estudio de los mecanismos fisiopatológicos subyacentes al desarrollo de una enfermedad hasta mejoras en su diagnóstico, así como en el seguimiento y evaluación de la biodistribución de células autólogas en la terapia de regeneración. No cabe duda que la resonancia magnética se convertirá pronto en una herramienta básica en el estudio experimental de las enfermedades pancreáticas, en su diagnóstico y pronóstico, así como en el seguimiento de la respuesta a terapias celulares en animales de experimentación, tales como el cerdo. Sin embargo, actualmente

son necesarios estudios de anatomía topográfica y seccional que permitan una correcta interpretación de las imágenes de TC y RM de la zona pancreática en esta especie

La topografía estable de este órgano, principalmente debida a su localización retroperitoneal, se pone en evidencia por el hecho de que en todos los animales el páncreas se afectó en los niveles T14 a L1. La localización de las secciones de páncreas no varió entre los animales, hecho que sí acontece con otros órganos próximos como el hígado, bazo y estómago.

La mayor parte de páncreas del cerdo se corresponde con los niveles vertebrales T14 y T15, quedando parte del órgano ocupando los niveles T13 y L1. El páncreas apenas alcanza los niveles T12 y L2. Sin embargo, otros autores refieran que el páncreas cruza la pared dorsal de la cavidad abdominal ventral a las vertebrae lumbares primera, segunda y tercera (Dyce et al. 1999, Getty 2001).

Las escasas variaciones encontradas respecto a la topografía del páncreas mediante el análisis de imágenes de RM puede deberse a que, a pesar de ser un órgano fijo, podría verse afectado por la respiración del animal durante la exploración. Esta situación ha sido referida en humana por algunos autores (Dobelbower & Bronn 1990).

El lóbulo derecho en su porción más superficial se incide en los cortes a nivel de la vértebra T14. Su porción más profunda ocupa los cortes



relacionados con el nivel L2, aunque depende de la mayor o menor extensión que presente dicho lóbulo.

El cuerpo del páncreas coincide con los cortes a nivel vertebral T14. La presencia del colon transversal y el mesocolon cubriendo la posición retroperitoneal del páncreas ha sido descrita con anterioridad (Ferrer et al. 2008). Esta posición del cuerpo del páncreas le confiere muy poca variabilidad en su localización.

El lóbulo izquierdo del páncreas en el cerdo se proyecta lateral y caudalmente desde el cuerpo, lo que supone que éste aparezca mayoritariamente a nivel de los tercios medio y caudal de la vértebra T15. Sin embargo en humana, la cola del páncreas se proyecta lateralmente y hacia craneal, en concreto desde el nivel vertebral L1-L2 hasta el nivel vertebral T12 (Asencio et al. 2003).

En nuestros resultados la mayor extensión del páncreas se corresponde con aquellos cortes que afectan al lóbulo izquierdo. En este sentido se expresan otros autores cuando describen que dos tercios del páncreas se localizan a la izquierda del plano medio (Dyce et al. 1999), presentando como relaciones el fondo del estómago (Frandsen 1988, Ferrer et al. 2008), el bazo y el duodeno (Shively 1993, Frandsen 1988, Getty 2001, Ferrer et al. 2008).

El tamaño del páncreas corresponde principalmente al lóbulo izquierdo, que representa al 70% del peso total (Ferrer et al. 2008). Esta valoración

anat6mica se pone de manifiesto al observar que los mayores vol6menes para el p6ncreas, en los estudios de volumetría 3D obtenidos de animales vivos por RM, se relacionan con mayores secciones del p6ncreas en los niveles vertebrales T14 y T15 y no con proyecciones m6s caudales del mismo.

Los n6dulos linf6ticos g6stricos pr6ximos al cardias y en la curvatura menor del est6mago se han evidenciado en las secciones correspondientes al nivel T13, y pueden confundirse con par6nquima pancre6tico en las im6genes de RM. Se trata de 1 a 5 n6dulos que miden alrededor de 0.3 a 6 cm, (Nikel, et al, 1981) y reciben linfa del est6mago, parte del extremo caudal del es6fago, diafragma y p6ncreas (Dyce et al, 1999).

De igual forma, los n6dulos linf6ticos hep6ticos, en n6mero de 2 a 7, se localizan en los niveles T13 y T14 (tercio craneal) en el porta hep6tico, miden de 0,7 a 8.8 cm y drenan el hígado, parte del p6ncreas y la linfa procedente de los n6dulos pancreatoduodenales.

### **Anatomía Vascul:**

El 6xito de la terapia pancre6tica in vivo depender6 de la ruta de administraci6n utilizada (Tal, 2004, Ayuso, 2006). Se han descrito diferentes vías para administraci6n de agentes terap6uticos en el interior del p6ncreas en roedores (Ayuso, 2004, Wang, 2004, Loiler, 2005), mamíferos superiores (Hirshberg, 2002, Ayuso, 2006) y en la especie humana (Maleux, 2005). La administraci6n sist6mica, vía arterial o venosa, de genes para el p6ncreas se

ha realizado en ratón, siendo su principal limitación la infección de otros órganos junto con el páncreas (Ayuso, 2004). Algunos autores han empleado el abordaje directo al páncreas mediante inyección para la administración de genes (Wang, 2004), en tipo de abordaje se hacen necesarios múltiples sitios de inyección y existe la limitación de que los elementos administrados no alcancen las regiones más profundas del páncreas. Además, las inyecciones múltiples incrementan el daño en el páncreas, induciendo pancreatitis y toxicidad. La inyección en la circulación pancreática de vectores adenovirales se ha descrito en perros para la transferencia de genes in vivo (Ayuso, 2006). Sin embargo, fue necesario cirugía abierta para acceder a la región pancreática y el clampado de su circulación. La inyección a través del conducto pancreático, como vía de administración de genes para el páncreas, se ha investigado en ratas y ratones (Loiler, 2005). La utilización de esta vía de abordaje al páncreas en modelos animales superiores o en especie humana requiere el uso de técnicas de colangiopancreatografía retrograda endoscópica, además una de sus principales limitaciones es la alta presión de inyección necesaria lo que puede lesionar el páncreas.

Nuestros resultados sobre la anatomía vascular del cuerpo del páncreas y del lóbulo derecho indican que las arterias implicadas en la arcada pancreaticoduodenal no son arterias terminales, tal y como han referido otros autores previamente (Nickel et al. 1979, Skjennald 1982, Shaller 1996, Climent et al. 2005, Ferrer et al. 2008). En este sentido, las corrosiones arteriales evidencian la presencia constante de la rama pancreática de la arteria esplénica, como única arteria terminal que vasculariza el lóbulo izquierdo del

páncreas. Las corrosiones vasculares y los estudios angiográficos demuestran que esta arteria, para el lóbulo izquierdo del páncreas, es susceptible de utilizarse para técnicas endovasculares como potencial ruta en la experimentación de nuevas terapias.

Esta arteria se puede comparar con la arteria pancreática magna de humana, con la diferencia de que en porcino no presenta anastomosis. Dicha estructura vascular se cita en la Nomenclatura Anatómica Veterinaria como rama pancreática de la arteria esplénica. Shaller (1996) indica que la irrigación del lóbulo izquierdo del páncreas la realiza una única rama pancreática, a la que denominan arteria pancreática principal (magna) (Shokouh-Amiri et al. 1989, Morel et al. 1991) o arteria pancreática posterior (Ferrer et al. 2008).

Trabajos previamente publicados, basados en disecciones de la anatomía vascular del páncreas porcino coinciden al referir la presencia de esta arteria pancreática (Traverso et al. 1987, Shokouh-Amiri et al. 1989, Zimmermann, 1989, Troisi et al. 1997). Estos autores describen variaciones en la distribución arterial del páncreas porcino, relacionadas con la arteria pancreática para el lóbulo izquierdo. Así indican que el origen más común para esta arteria fue la arteria esplénica con valores que van desde el 85.5% (Shokouh-Amiri et al. 1989) al 50% . Mientras que el origen desde la arteria hepática se constató desde el 14.5% (Shokouh-Amiri et al. 1989) al 30 % de los animales.

Estos resultados, referidos en la literatura bibliográfica, son similares a los porcentajes de nuestro trabajo en cuanto al arranque desde las arterias esplénica y hepática, 80% y 20% respectivamente. Sin embargo, en nuestro estudio no hemos podido identificar la variación descrita por Traverso y Mc Farlane (Traverso, 1987), relativa al origen de la arteria pancreatica magna directamente del tronco celíaco. Las diferencias entre nuestros resultados y los de Traverso y Mc Farlane (Traverso, 1987) podrían deberse a las razas de cerdos empleada.

Respecto a las consideraciones sobre los tamaños de estas arterias, pocos son los autores que aportan información. La arteria esplénica con un diámetro de 4.4 mm desprende de 4 a 5 ramas terminales de pequeño calibre sin cuantificar (Skjennald et al. 1982). La arteria hepática, con un diámetro de 4.7 mm proporciona de 2 a 5 ramas pancreáticas con diámetros inferiores a 1mm para el lóbulo derecho (Skjennald et al. 1982). Por otro lado, la arteria gastroduodenal ha sido descrita por los mismos autores con un diámetro de 2.3 mm y desprendiendo de 3 a 5 ramas pancreáticas de menos de 1 mm de diámetro (Skjennald et al. 1982). De los diámetros referidos para las arterias esplénica, hepática y gastroduodenal se deduce la ausencia de dificultades para obtener sus angiografías en el presente estudio. Por otro lado, las ramas pancreáticas descritas por estos autores se han identificado en las corrosiones de nuestro trabajo. Hemos podido comprobar que se trata de ramas terminales, cuyos diámetros impiden la cateterización superselectiva mediante fluoroscopia. De hecho estas ramas apenas se pueden evidenciar en las angiografías selectivas de la arteria celíaca. Por ello, la única rama pancreática

terminal que hemos podido identificar se corresponde con la rama para el lóbulo izquierdo. Sin embargo, no se han encontrado referencias sobre valores de diámetro para esta rama pancreática del lóbulo izquierdo.

Los valores de diámetro en esta arteria objeto de estudio, a nivel del ostium, fue siempre lo suficientemente grande para permitir la entrada de un catéter angiográfico de 5 F, independientemente del lugar de origen de la misma.

### **Abordaje endovascular:**

El acceso a los vasos pancreáticos mediante técnicas quirúrgicas clásicas puede resultar complicado debido a que los vasos están rodeados por tejido pancreático y con una topografía retroperitoneal profunda. En estudios previos en el perro, empleando administración de terapia génica en el parénquima pancreático, fue necesaria laparotomía quirúrgica y clampado manual de la circulación pancreática (Ayuso, 2006).

En este trabajo se evalúa la administración arterial transcateteral como un potencial abordaje al páncreas porcino. Los resultados de la anatomía vascular nos han permitido identificar una arteria pancreática terminal que posibilita una administración precisa y exclusiva al parénquima pancreático. La cateterización superselectiva de la rama pancreática para el lóbulo izquierdo se logró en todos los animales de nuestro estudio, validando así la administración



arterial transcateteral como técnica de abordaje vascular mínimamente invasivo al páncreas.

Existe una especial motivación para desarrollar mejores métodos que eviten la pérdida post inyección de los elementos administrados durante la terapia pancreática (Tal, 2004).

Tras la administración intraarterial es necesario conseguir que los elementos inyectados en el páncreas permanezcan el mayor tiempo posible en él sin ser arrastrados por la corriente sanguínea. Empleando la técnica de administración arterial transcateteral, utilizada en este trabajo, las sustancias/elementos pueden ser inyectadas lentamente y de forma directa dentro del páncreas.

El diámetro medio de la arteria pancreática magna a 4, 6 ó 8 mm del ostium fue menor que el diámetro de la punta del catéter 5F/1-67 mm). Durante y después de la administración arterial transcateteral, la punta del catéter puede ser encajada en el interior de la arteria, bloqueando de esta manera el flujo sanguíneo hacia el páncreas y permitiendo la disponibilidad de una mayor concentración de los elementos inyectados. Incluso mientras se mantiene el catéter en esa posición, puede evitarse temporalmente que los elementos inyectados sean objeto del efecto lavado debido al flujo sanguíneo. Ello supone prolongar el contacto entre los agentes terapéuticos y el tejido pancreático, lo que puede ser la razón por la cual, después del procedimiento

de administración arterial transcateteral, las imágenes de TC muestran contraste retenido en el lóbulo izquierdo.

En este trabajo se ha utilizado Bisbenzimidide (H 33258 Fluorochrome Hoechst) como marcador para demostrar la eficacia de este abordaje al transferir agentes dentro del tejido pancreático.

Hoechst es un colorante fluorescente específico adenina-timina y permeable a membranas, útil para teñir en vivo ADN en cromosomas y núcleos. Hoechst ha sido usado como prueba fluorescente en estudios biológicos de tumores (Young 1989). La administración in vivo de Hoechst ha sido utilizada para marcar células tumorales con fluorescencia (Chaplin 1985, Loeffler 1987, Siemann 1988). En otros estudios sobre modelos de cáncer pancreático in vivo, el Hoechst ha sido administrado en la vena de la cola de ratón para determinar la perfusión vascular del tumor (Camp, 2006, Trotter, 1990). Consideró el Hoechst como un marcador vascular para detectar fluctuaciones tumorales espontáneas de flujo sanguíneo o hipoxia aguda.

En nuestro estudio la población de células pancreáticas con núcleos teñidos con Hoechst representa la potencial distribución después de la administración arterial transcateteral desde la arteria pancreática magna. El área de distribución comprende de forma completa el parénquima del lóbulo izquierdo, pero no el resto del páncreas. Es importante recordar que el peso del lóbulo izquierdo del páncreas supera el 70% del peso total del órgano (Ferrer, 2008). Estos resultados apoyan la idea de que este abordaje permite una

perfusión selectiva y directa del lóbulo izquierdo del páncreas y un contacto eficaz con el parénquima pancreático.

No se observaron posibles efectos adversos sobre la función normal de los vasos sanguíneos y tejidos próximos con este método de administración.

La evaluación de lesiones iatrogénicas por el método se centró en analizar la potencial disfunción o las posibles lesiones histopatológicas del páncreas. Ningún estudio en este sentido ha evaluado la función pancreática tras abordaje endovascular. Los resultados a los siete días apoyan la seguridad de este método para abordar al páncreas porcino, dado que no se presentaron disfunciones pancreáticas ni lesiones histopatológicas en los animales.

Dos son los factores limitantes pendientes de evaluar para terminar de validar este abordaje al páncreas:

1. Emplear este abordaje con agentes virales o islotes pancreáticos para poder así analizar su biodistribución en el parénquima pancreático.
2. Emplear este abordaje al páncreas en modelos con diabetes, donde poder evaluar la distribución de los agentes inyectados.

Los resultados obtenidos permiten sugerir que la administración arterial transcateteral es un abordaje mínimamente invasivo al páncreas porcino, que puede realizarse de forma segura, y llegar a contribuir en el ensayo de nuevas terapias para la diabetes en modelo porcino.

## **6 CONCLUSIONES**

1ª.- La topografía retroperitoneal del páncreas porcino afecta al cuerpo y a parte de los lóbulos derecho e izquierdo, lo que dificulta su acceso mediante abordajes quirúrgicos transperitoneales clásicos.

2ª.- El número medio de islotes del parénquima pancreático endocrino por unidad de área, en los animales estudiados de raza Large White, es mayor en el lóbulo derecho que en el resto del páncreas. De igual forma, su tamaño medio es superior al que presentan los islotes del cuerpo y del lóbulo izquierdo. Sin embargo, el porcentaje total de parénquima endocrino en el lóbulo derecho no difiere al del resto del páncreas, con valores alrededor al 2%.

3ª.- La ausencia de variación en la topografía del páncreas porcino, debido principalmente a su localización retroperitoneal, se constata por el hecho de que en todos los animales estudiados, el páncreas interesó los niveles de corte coincidentes con las vértebras T14 a L1. El lóbulo derecho en su porción más superficial se relaciona con los cortes a nivel de la vértebra T14, y en su porción profunda con el nivel L2. El cuerpo del páncreas coincide con los cortes

practicados a nivel vertebral T14. Por su parte, el lóbulo izquierdo deriva lateral y caudalmente desde el cuerpo del páncreas, lo que implica su aparición mayoritariamente a nivel de los tercios medio y caudal de la vértebra T15.

4ª.- Los resultados obtenidos mediante corrosiones arteriales muestran la presencia constante en el cerdo de una rama pancreática procedente de la arteria esplénica, como única formación vascular terminal para el lóbulo izquierdo del páncreas.

5ª.- Los valores de morfometría realizados sobre las corrosiones vasculares y los estudios angiográficos ponen de manifiesto las variaciones que puede presentar esta arteria en su origen. Así como el hecho de ser susceptible su empleo para técnicas endovasculares, como potencial ruta experimental en nuevas terapias.

6ª.- Los resultados obtenidos sugieren que la administración arterial transcateteral es un abordaje mínimamente invasivo al páncreas porcino factible de realizarse de forma segura, que puede llegar a contribuir al ensayo de nuevas terapias para la diabetes en el modelo porcino.

## **7 RESUMEN**

El cerdo ha sido empleado como modelo animal en investigaciones sobre enfermedades pancreáticas humanas. En ambas especies el páncreas es casi retroperitoneal y su cuerpo rodea a la vena porta. El uso de modelos animales es una herramienta esencial para investigar la etiología y la patogenia de la diabetes, y para desarrollar tratamientos efectivos como son el trasplante de islotes pancreáticos o la ingeniería genética. El éxito de estas terapias depende en gran medida de la correcta elección de la vía de administración. Para conseguir terapias viables en clínica antes son necesarios ensayos preclínicos en los que se identifiquen métodos seguros para administrar estos vectores o células en los receptores, así como definir mejores sistemas que prevengan la pérdida de los elementos transferidos al páncreas. Está ampliamente asumido que las imágenes por resonancia magnética (RM) resultaran de gran valor para los estudios experimentales sobre enfermedades pancreáticas, permitiendo la monitorización de la distribución de las células utilizadas durante la terapia celular.



**Objetivos:** Los objetivos de este trabajo fueron: 1.- Estudiar la anatomía e histología del páncreas porcino; 2.- Describir la anatomía seccional de la región pancreática mediante RM y secciones anatómicas plastinadas; 3.- Confirmar que las arterias pancreáticas terminales en el cerdo constituyen una ruta potencial para la administración selectiva en páncreas de células de islotes o de productos génicos, mediante técnicas endovasculares mínimamente invasivas.

**Diseño de la investigación y métodos:** Cerdos Large White jóvenes fueron examinados con RM y posteriormente sacrificados de forma humanitaria. Crio-secciones transversales finas (2-3 mm) en las que se interesaba el páncreas fueron plastinadas mediante el método E-12 (Biodur®). Veinte páncreas se procesaron para el estudio histológico. El análisis vascular de las ramas terminales se realizó mediante la inyección de ocho cadáveres de cerdo con resina epoxy. En diez cerdos vivos se llevaron a cabo angiografías superselectivas en ramas terminales.

**Resultados:** La topografía del páncreas se relacionó con órganos retroperitoneales. El porcentaje y tamaño de los islotes de parénquima endocrino fueron mayores en el lóbulo derecho que en el resto del páncreas. La correspondencia en detalles anatómicos entre las imágenes plastinadas y las imágenes de RM fue buena. Las imágenes de RM permitieron la identificación del cuerpo y lóbulos derecho e izquierdo del páncreas, así como su relación con otros órganos tales como el bazo, riñones y estómago, y con las venas cava caudal y porta. Las secciones del abdomen a nivel de la

vértebra torácica T14 mostraron su relación con el lóbulo derecho y con el cuerpo del páncreas. Las secciones a nivel de la vértebra T15 interesaron las mayores áreas del páncreas, en concreto el lóbulo izquierdo. Una rama pancreática terminal de la arteria esplénica se presentó en todos los animales. Las angiografías superselectivas de la misma indicaron que el catéter angiográfico podía ser colocado y adaptado en su interior. Una vez encajado el catéter, se bloquea el flujo de sangre hacia el lóbulo izquierdo del páncreas.

**Conclusión:** La información aportada en este trabajo debería ayudar a los clínicos en la interpretación y posterior diagnóstico de porciones específicas del páncreas porcino mediante imágenes de RM. Por otro lado, se ha desarrollado un valioso abordaje mínimamente invasivo al páncreas porcino. Ello puede contribuir al ensayo de nuevas terapias para diabetes en este modelo animal. No obstante, nuevos estudios serán necesarios para poder evaluar la eficacia del abordaje referido en terapia para diabetes.

## 8 Summary

Pigs have been used as animal model for research of several human pancreatic diseases. In both species the pancreas is almost retroperitoneal, and the pancreatic body wraps the portal vein. Animal models are essential tools for investigating the etiology and pathogenesis of diabetes and for the development of effective treatments as islet transplantation or genetic engineering. Successful of these new therapies will depend on the appropriate choice of the route of administration. To make these therapies viable in the clinical setting, preclinical investigation must first identify safer ways to deliver the cells or vectors into recipients and, define better methods for preventing post administration loss of elements transferred through the pancreas. It is likely that magnetic resonance imaging (MRI) will become fundamental for experimental studies of the pancreatic disease, and to monitoring the distribution of cells used in cell therapy procedures.

**Objectives:** The aims of the current study were: 1. Study the anatomy and histology of the porcine pancreas; 2. Describe the normal sectional anatomy of the pig pancreatic region by MRI and plastinated anatomic sections; 3. Confirm

that the pancreatic terminal arteries in pigs are a potential route for the selective delivery of islet cells or gene products to the pancreas by minimally invasive endovascular techniques.

**Research design and methods:** Large White juvenile pigs were examined by MRI and then euthanized according to human procedure. Thin transversal cryosections (2-3mm) containing the pancreas were plastinated by the E12 method (Biodur®). Twenty pancreases were processed for histology study. Anatomic vascular study of pancreatic terminal arteries was obtained by epoxy resin injection of eight pig cadavers. Super selective angiography in the pancreatic terminal branch was conducted in vivo in ten pigs.

**Results:** Topography of the pancreas was related with retroperitoneal organs. Frequency and size of endocrine parenchyma islets was higher in right lobe of the pancreas than in the rest of the pancreas. Good correspondence of anatomical details was found between plastinated and MRI images. MRI allowed the identification of the body, the right and left lobes, as well as the relationship of the pancreas with other organs, such as spleen, kidneys, stomach, caudal cava and portal veins. Sections at the vertebral level of T14 showed a relation with right lobe and body of the pancreas. Sections at the level of vertebra T15 showed the highest areas of pancreas and were related with left lobe. A constant pancreatic terminal branch from the splenic artery was present in all animals. Super selective angiography in the pancreatic branch showed that the angiographic catheter could be inserted and wedged into the pancreatic

branch. The wedged catheter completely blocked the blood flow into the left lobe of pancreas.

**Conclusion:** Information provided in this work should aid clinicians in the interpretation and following diagnosis of the specific portions of the porcine pancreas by MRI. On the other hand a valuable minimally invasive approach to the porcine pancreas has been developed. It may contribute to assay new diabetes therapies in swine models. Further studies are needed to examine the specific efficiency of this approach in diabetes therapies.

## 9 BIBLIOGRAFÍA

AGOSTINI, S. 2005. [The pancreas demystified]. -*J Radiol*, **86**: 717-8.

AMENTA, S. P. 1983. *Histología y Embriología*. Ed. Interamericana, Mexico.

AREPALLY, A., BARNETT, B., MONTGOMERY, E. and PATEL, T. 2007. Catheter-directed gastric artery chemical embolization for modulation of systemic ghrelin levels in a porcine model: initial experience. -*Radiology*, **244**: 138-43.

AREPALLY, A., BARNETT, B., PATEL, T., PATEL, T., HOWLAND, V., BOSTON, R., KRAITCHMAN, D. and MALAYERI, A. 2008. Catheter-directed gastric artery chemical embolization suppresses systemic ghrelin levels in porcine model. -*Radiology*, **249**: 127-33.

ASENSIO, A. J., GARCÍA J., PETRONE, P., ROLDAN, G., PARDO, M., GARCÍA, M.W., O'SHANAHAN, G., KARSIDAG, T. RATTAPLEE P., KELCIR, E. 2003. Traumatismos pancreáticos, lesiones complejas, tratamientos difíciles. -*Cir. Esp.*, **74**: 124-133.

ASLANIAN, H., SALEM, R. R., MARGINEAN, C., ROBERT, M., LEE, J. H. and TOPAZIAN, M. 2005. EUS-guided ethanol injection of normal porcine pancreas: a pilot study. -*Gastrointestinal endoscopy*, **62**: 723-727.

AYUSO, E., CHILLÓN, M., AGUDO, J., HAURIGOT, V., BOSCH, A., CARRETERO, A., OTAEGUI, P. and BOSCH, F. 2004. In vivo gene transfer to pancreatic beta cells by systemic delivery of adenoviral vectors. -*Hum Gene Ther*, **15**: 805-12.

AYUSO, E., CHILLÓN, M., GARCÍA, F., AGUDO, J., ANDALUZ, A., CARRETERO, A., MONFAR, M., MOYA, M., MONTANÉ, J., OTAEGUI, P. and BOSCH, F. 2006. In vivo gene transfer to healthy and diabetic canine pancreas. -*Mol Ther*, **13**: 747-55.

BALINSKY, B. I., FABIAN B.C. 1983. *Introducción a la Embriología*. Ed. Omega, Barcelona, España.



- BALLINGER, W. and LACY, P. 1972. Transplantation of intact pancreatic islets in rats. -Surgery, **72**: 175-86.
- BARNETT, B. P., AREPALLY, A., KARMARKAR, P. V., QIAN, D., GILSON, W. D., WALCZAK, P., HOWLAND, V., LAWLER, L., LAUZON, C., STUBER, M., KRAITCHMAN, D. L. and BULTE, J. W. 2007. Magnetic resonance-guided, real-time targeted delivery and imaging of magnetocapsules immunoprotecting pancreatic islet cells. -Nature medicine, **13**: 986-991.
- BARNETT, B. P., KRAITCHMAN, D. L., LAUZON, C., MAGEE, C. A., WALCZAK, P., GILSON, W. D., AREPALLY, A. and BULTE, J. W. 2006. Radiopaque alginate microcapsules for X-ray visualization and immunoprotection of cellular therapeutics. -Molecular pharmaceutics, **3**: 531-538.
- BARONE, R. 1976. Anatomie comparée des Mammifères Domestiques. Ed. Vigot, Lyon, Francia.
- BEATTIE, G., ITKIN-ANSARI, P., CIRULLI, V., LEIBOWITZ, G., LOPEZ, A., BOSSIE, S., MALLY, M., LEVINE, F. and HAYEK, A. 1999. Sustained proliferation of PDX-1+ cells derived from human islets. -Diabetes, **48**: 1013-9.
- BONNER-WEIR, S., TANEJA, M., WEIR, G., TATARKIEWICZ, K., SONG, K., SHARMA, A. and O'NEIL, J. 2000. In vitro cultivation of human islets from expanded ductal tissue. -Proc Natl Acad Sci U S A, **97**: 7999-8004.
- BRETZEL, R., BRANDHORST, D., BRANDHORST, H., ECKHARD, M., ERNST, W., FRIEMANN, S., RAU, W., WEIMAR, B., RAUBER, K., HERING, B. and BRENDEL, M. 1999. Improved survival of intraportal pancreatic islet cell allografts in patients with type-1 diabetes mellitus by refined peritransplant management. -J Mol Med, **77**: 140-3.
- CAMP, E., YANG, A., LIU, W., FAN, F., SOMCIO, R., HICKLIN, D. and ELLIS, L. 2006. Roles of nitric oxide synthase inhibition and vascular endothelial growth factor receptor-2 inhibition on vascular morphology and function in an in vivo model of pancreatic cancer. -Clin Cancer Res, **12**: 2628-33.
- CARDONA, K., KORBUTT, G., MILAS, Z., LYON, J., CANO, J., JIANG, W., BELLO-LABORN, H., HACQUOIL, B., STROBERT, E., GANGAPPA, S., WEBER, C., PEARSON, T., RAJOTTE, R. and LARSEN, C. 2006. Long-term survival of neonatal porcine islets in nonhuman primates by targeting costimulation pathways. -Nat Med, **12**: 304-6.
- CHAPLIN, L., COHEN, A., HUETTL, P., KENNEDY, M., NJUS, D. and TEMPERLEY, S. 1985. Reserpine acid as an inhibitor of norepinephrine transport into chromaffin vesicle ghosts. -J Biol Chem, **260**: 10981-5.

- CLIMENT S., S. M., MUNIESA P., LATORRE R. 2005. *Manual de anatomía y embriología de los animales domésticos. Conceptos básicos y datos aplicativos.* Ed. Acribia, Zaragoza, España.
- CORLISS, C. E. 1979. *Embriología Humana de Patten, fundamentos del desarrollo clínico.* Ed. El Ateneo, Buenos Aires, Argentina.
- COZZI, E. and WHITE, D. 1995. *The generation of transgenic pigs as potential organ donors for humans.* -*Nat Med*, **1**: 964-6.
- DELLMAN, D. H. 1994. *Histología Veterinaria.* Ed. Acribia, Zaragoza, España.
- DOBELBOWER, R. and BRONN, D. 1990. *Radiotherapy in the treatment of pancreatic cancer.* - *Baillieres Clin Gastroenterol*, **4**: 969-83.
- DYCE, K. M. and SACK, W. O. W., C.J.G. 1999. *Anatomía Veterinaria.* Ed. McGraw-Hill Interamericana, México, D.F.
- EFRAT, S. 1998. *Prospects for gene therapy of insulin-dependent diabetes mellitus.* -*Diabetologia*, **41**: 1401-9.
- EGOROV, V., IASHINA, N., FEDOROV, A., VISHNEVSKIĬ, V., KARMAZANOVSKIĬ, G. and SHEVCHENKO, T. 2009. *[Arterial celiac-mesenterial aberrations: comparative analysis of intraoperative data and CT-angiography].* -*Khirurgiia (Mosk)*: 4-9.
- ESCOLAR, J., AMAT, P., SMITH, A.V., SMITH, A.J.M., SARRAT, R., REINOSO, F., RODRIGUEZ, S. 1974. *Anatomía Humana funcional y aplicada.* Ed. Espax, Barcelona, España.
- FERRER, J., SCOTT, W. R., WEEGMAN, B., SUSZYNSKI, T., SUTHERLAND, D., HERING, B. and PAPAS, K. 2008. *Pig pancreas anatomy: implications for pancreas procurement, preservation, and islet isolation.* -*Transplantation*, **86**: 1503-10.
- FLORACK, G., SUTHERLAND, D. E., CAVALLINI, M. and NAJARIAN, J. S. 1983. *Technical aspects of segmental pancreatic autotransplantation in dogs.* -*American Journal of Surgery*, **146**: 565-574.
- FRADSON, R. D. 1988. *Anatomía y fisiología de los animales domésticos.* Ed. Interamericana McGraw-hill, México D.F.
- GETTY, R. 2001. *Sisson- Grossman Anatomía de los animales domésticos.* Ed. Masson, Barcelona, España.

- GONZÁLEZ, J., GONZÁLEZ, R. 1961. *Anatomía comparada de los animales domésticos*. Editorial Salvat, Barcelona, España.
- GÄNGER, K., METTLER, D., HÖFLIN, F., RUCHTI, C., MINNIG, E., BÖSS, H. and SCHILT, W. 1987. *Experimental pancreaticosplenic composite transplantation in the pig. Operative technique and assessment of graft function*. -*Eur Surg Res*, **19**: 323-8.
- HERING, B., WIJKSTROM, M., GRAHAM, M., HÅRDSTEDT, M., AASHEIM, T., JIE, T., ANSITE, J., NAKANO, M., CHENG, J., LI, W., MORAN, K., CHRISTIANS, U., FINNEGAN, C., MILLS, C., SUTHERLAND, D., BANSAL-PAKALA, P., MURTAUGH, M., KIRCHHOF, N. and SCHUURMAN, H. 2006. *Prolonged diabetes reversal after intraportal xenotransplantation of wild-type porcine islets in immunosuppressed nonhuman primates*. -*Nat Med*, **12**: 301-3.
- HILDEBRAND, M. 1982. *Anatomía y Embriología de los vertebrados*. Ed. Limusa, México.
- HIRSHBERG, B., MONTGOMERY, S., WYSOKI, M. G., XU, H., TADAKI, D., LEE, J., HINES, K., GAGLIA, J., PATTERSON, N., LECONTE, J., HALE, D., CHANG, R., KIRK, A. D. and HARLAN, D. M. 2002. *Pancreatic islet transplantation using the nonhuman primate (rhesus) model predicts that the portal vein is superior to the celiac artery as the islet infusion site*. -*Diabetes*, **51**: 2135-2140.
- HOFER, M. 2005. *Manual práctico de TC: Introducción a la TC*. Ed. Médica panamericana, España.
- JIMÉNEZ, G. L. 1976. *Embriología Humana normal y patológica*. Ed. Espaxs, Barcelona, España.
- KIRCHHOF, N., HERING, B., GEISS, V., FEDERLIN, K. and BRETZEL, R. 1994. *Evidence for breed-dependent differences in porcine islets of Langerhans*. -*Transplant Proc*, **26**: 616-7.
- KIVISAARI, L. 1979. *The effect of experimental pancreatitis and diabetes on the microvasculature of the rat pancreas*. -*Scand J Gastroenterol*, **14**: 689-95.
- KRAHMER, R., SHRODOR, L. 1976. *Anatomía de los Animales Domésticos*. Ed. Acribia, Zaragoza España.
- KRICKHAHN, M., BÜHLER, C., MEYER, T., THIEDE, A. and ULRICH, K. 2002. *The morphology of islets within the porcine donor pancreas determines the isolation result: successful isolation of pancreatic islets can now be achieved from young market pigs*. -*Cell Transplant*, **11**: 827-38.
- KUMAGAI, N., O'NEIL, J., BARTH, R., LAMATTINA, J., UTSUGI, R., MORAN, S., YAMAMOTO, S., VAGEFI, P., KITAMURA, H., KAMANO, C., SACHS, D. and YAMADA, K. 2002. *Vascularized*

- islet-cell transplantation in miniature swine. I. Preparation of vascularized islet kidneys. - Transplantation, 74: 1223-30.*
- KYRIAKIDES, G. K., NUTTALL, F. Q. and MILLER, J. 1979. Segmental pancreatic transplantation in pigs. -*Surgery, 85: 154-158.*
- LARSEN, M., WILKEN, M., GOTFREDSEN, C., CARR, R., SVENDSEN, O. and ROLIN, B. 2002. Mild streptozotocin diabetes in the Göttingen minipig. A novel model of moderate insulin deficiency and diabetes. -*Am J Physiol Endocrinol Metab, 282: E1342-51.*
- LINETSKY, E., BOTTINO, R., LEHMANN, R., ALEJANDRO, R., INVERARDI, L. and RICORDI, C. 1997. Improved human islet isolation using a new enzyme blend, liberase. -*Diabetes, 46: 1120-3.*
- LOEFFLER, D., KENG, P., WILSON, K. and LORD, E. 1987. Comparison of fluorescence intensity of Hoechst 33342-stained EMT6 tumour cells and tumour-infiltrating host cells. -*Br J Cancer, 56: 571-6.*
- LOILER, S. A., TANG, Q., CLARKE, T., CAMPBELL-THOMPSON, M. L., CHIODO, V., HAUSWIRTH, W., CRUZ, P., PERRET-GENTIL, M., ATKINSON, M. A., RAMIYA, V. K. and FLOTTE, T. R. 2005. Localized gene expression following administration of adeno-associated viral vectors via pancreatic ducts. -*Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy, 12: 519-527.*
- MALEUX, G., GILLARD, P., KEYMEULEN, B., PIPELEERS, D., LING, Z., HEYE, S., THIJS, M., MATHIEU, C. and MARCHAL, G. 2005. Feasibility, safety, and efficacy of percutaneous transhepatic injection of beta-cell grafts. -*J Vasc Interv Radiol, 16: 1693-7.*
- MONTERDE, J. G. 2002. *Embriología Veterinaria. Ed. Copisterias, Cordoba, España.*
- MOREL, P., KAUFMANN, D., MATAS, A., TZARDIS, P., FIELD, M., LLOVERAS, J. and SUTHERLAND, D. 1991. Total pancreatectomy in the pig for islet transplantation. Technical alternatives. -*Transplantation, 52: 11-5.*
- MÜLLER-MINY, H., DÜLKS, A., KREFT, B., SOMMER, T., GIESEKE, J. and GÖRICH, J. 1996. [MRI of the pancreas: value of standard versus fat-suppressed pulse sequence at 0.5 T]. -*Rofo, 164: 19-24.*
- NICKEL R., S. A., SEIFERLE E. 1979. *The viscera of the Domestic Mammals. Ed. Verlag Paul Parey, Berlin.*

- NICKEL R., S. A., SEIFERLE E. 1981. *The Anatomy of the Domestic Animals*. Ed. Verlag Paul Parey, Berlin-Hamburg.
- NYLAND, T., WALLACK, S. and WISNER, E. 2002. Needle-tract implantation following us-guided fine-needle aspiration biopsy of transitional cell carcinoma of the bladder, urethra, and prostate. - *Vet Radiol Ultrasound*, **43**: 50-3.
- ODMAN, P. 1958. Percutaneous selective angiography of the coeliac artery. -*Acta Radiol Suppl*, **159**: 1-168.
- OUTWATER, E. and MITCHELL, D. 1996. MR imaging techniques for evaluation of the pancreas. -*Top Magn Reson Imaging*, **8**: 248-64.
- PISANI MENDEZ, D., NIÑO FORNEZ, H. and DAO DAO, M. 1970. [Selective arteriography and renal tumors]. -*Rev Venez Urol*, **22**: 213-23.
- PRESTON, D. 2001. Recent publications and research activities at the Radiation Effect Research Foundation. -*J Radiol Prot*, **21**: 403-5.
- R. NICKEL, A. S., E. SEIFERLE. 1988. *Trattato di anatomia degli animali domestici*. Casa Editrice Ambrosiana, Milan, Italia.
- R.D., F. 1988. *Anatomía y fisiología de los animales domésticos*. Ed. Interamericana McGraw-hill, México D.F.
- RICORDI, C., LACY, P., FINKE, E., OLACK, B. and SCHARP, D. 1988. Automated method for isolation of human pancreatic islets. -*Diabetes*, **37**: 413-20.
- ROMERO, C. R. 2000. *Diagnostico por Imagen de las Enfermedades del Pancreas*. Revis. Gastrointerol, pp. 97-109.
- SANDOVAL, J. 2000a. *Tratado de Anatomía Veterinaria*. Ed. Sorles, España.
- SANDOVAL, J. 2000b. *Tratado de Anatomía Veterinaria Embriología*. Ed. Sorles, España.
- SCHALLER, O. L. B. S. 1996. *Nomenclatura Anatómica Veterinaria Ilustrada*. Ed. Acribia, Zaragoza España.
- SCHARP, D., LACY, P., SANTIAGO, J., MCCULLOUGH, C., WEIDE, L., FALQUI, L., MARCHETTI, P., GINGERICH, R., JAFFE, A. and CRYER, P. 1990. Insulin independence after islet transplantation into type I diabetic patient. -*Diabetes*, **39**: 515-8.

- SCHOENWOLF, C. G., WATTERSON, L.R. 1989. *Laboratory studies of chick, pig, and frog embryos guide and atlas of vertebrate embryology*. Ed. Macmillan Publishing Company, New York, EUA.
- SCOTT, W. R., MATSUMOTO, S., TANAKA, T., AVGOUSTINIATOS, E., GRAHAM, M., WILLIAMS, P., TEMPELMAN, L., SUTHERLAND, D., HERING, B., HAMMER, B. and PAPAS, K. 2008. *Real-time noninvasive assessment of pancreatic ATP levels during cold preservation*. -*Transplant Proc*, **40**: 403-6.
- SELDINGER, S. 1953. *Catheter replacement of the needle in percutaneous arteriography; a new technique*. -*Acta radiol*, **39**: 368-76.
- SHIVELY, M. J. 1993. *Anatomía Veterinaria, básica, comparativa y clínica*. Ed. Manual moderno, México D.F.
- SHOKOUH-AMIRI, M. H., RAHIMI-SABER, S. and ANDERSEN, H. O. 1989. *Segmental pancreatic autotransplantation in the pig*. -*Transplantation*, **47**: 42-44.
- SIEMANN, D. and KENG, P. 1988. *Characterization of radiation resistant hypoxic cell subpopulations in KHT sarcomas. (II). Cell sorting*. -*Br J Cancer*, **58**: 296-300.
- SKJENNALD, A. and STADAAS, J. 1982. *Angiography in acute experimental pancreatitis correlated to hemodynamic changes*. -*Scand J Gastroenterol Suppl*, **73**: 1-127.
- SORIA, B., ANDREU, E., BERNÁ, G., FUENTES, E., GIL, A., LEÓN-QUINTO, T., MARTÍN, F., MONTANYA, E., NADAL, A., REIG, J., RIPOLL, C., ROCHE, E., SANCHEZ-ANDRÉS, J. and SEGURA, J. 2000. *Engineering pancreatic islets*. -*Pflugers Arch*, **440**: 1-18.
- STEER, M. L. 1989. *Classification and pathogenesis of pancreatitis*. -*The Surgical clinics of North America*, **69**: 467-480.
- STOOPEN, M. 2007. *[Imaging of cancer of the pancreas]*. -*Rev Gastroenterol Mex*, **72 Suppl 2**: 160-4.
- TAL, M. G., HIRSHBERG, B., NEEMAN, Z., BUNNELL, D., SOLEIMANPOUR, S., BACHER, J., PATTERSON, N., CHANG, R. and HARLAN, D. M. 2004. *Induction of diabetes in nonhuman primates by means of temporary arterial embolization and selective arterial injection of streptozotocin*. -*Radiology*, **230**: 163-168.



- TAYLOR, M., BAICU, S., LEMAN, B., GREENE, E., VAZQUEZ, A. and BRASSIL, J. 2008. Twenty-four hour hypothermic machine perfusion preservation of porcine pancreas facilitates processing for islet isolation. -*Transplant Proc*, **40**: 480-2.
- TRAVERSO, L. W. and MACFARLANE, S. 1987. Pancreas autotransplantation--unsuitability of the swine as a model. -*Transplantation*, **44**: 450-451.
- TROISI, R., JACOBS, B., BERREVOET, F., VEREYCKEN, R., DE HEMPTINNE, B. and HESSE, U. J. 1997. The role of hepato-coeliac arterial reconstruction in porcine segmental pancreatic autotransplantation. -*Transplantation proceedings*, **29**: 3625-3626.
- TROISI, R., MAENE, L., JACOBS, B., BERREVOET, F., CLAUS, H., DE HEMPTINNE, B. and HESSE, U. J. 1998. Haemodynamic profiles of hepato-coeliac arterial reconstruction in porcine segmental pancreatic autotransplantation. -*Transplantation proceedings*, **30**: 582-583.
- TROISI, R., MAENE, L., JACOBS, B., BERREVOET, F., DE HEMPTINNE, B. and HESSE, U. J. 2000. Segmental porcine pancreatic autotransplantation as model for pancreas preservation studies using two different techniques for vascular reconstruction. -*Journal of investigative surgery : the official journal of the Academy of Surgical Research*, **13**: 203-211.
- TROTTER, M., OLIVE, P. and CHAPLIN, D. 1990. Effect of vascular marker Hoechst 33342 on tumour perfusion and cardiovascular function in the mouse. -*Br J Cancer*, **62**: 903-8.
- ULRICHS K, B. M., HEISER A, ECKSTEIN V, WACKER H-H, THIEDE A, RUCHHOLTZ W. 1995. Histomorphological characteristics of the porcine pancreas as a basis for the isolation of islets of Langerhans. *Xenotransplantation*, pp. 176–187.
- VAN DER LAAN, L., LOCKEY, C., GRIFFETH, B., FRASIER, F., WILSON, C., ONIONS, D., HERING, B., LONG, Z., OTTO, E., TORBETT, B. and SALOMON, D. 2000. Infection by porcine endogenous retrovirus after islet xenotransplantation in SCID mice. -*Nature*, **407**: 90-4.
- WANG, A. Y., PENG, P. D., EHRHARDT, A., STORM, T. A. and KAY, M. A. 2004. Comparison of adenoviral and adeno-associated viral vectors for pancreatic gene delivery in vivo. -*Human Gene Therapy*, **15**: 405-413.
- WEAVER, C. 1997. Angioarchitecture of the atrophic pancreas. -*Microscopy research and technique*, **37**: 520-542.
- WEIR, G. and BONNER-WEIR, S. 1997. Scientific and political impediments to successful islet transplantation. -*Diabetes*, **46**: 1247-56.

WHEATER, P. R., BURKITT, H.G., DANIELS, V.G. 1987. *Histología Funcional texto y atlas en color*. Ed. Jims, Barcelona, España.

WILLIAMS, P. L., WARWICK, R. 1985. *Gray Anatomía*. Ed. Salvat, Barcelona, España.

WISCHNITZER, S. 1980. *Atlas y guía de laboratorio de embriología de vertebrados*. Ed. Omega, Barcelona, España.

YOUNG, S. and HILL, R. 1989. *Radiation sensitivity of tumour cells stained in vitro or in vivo with the bisbenzimidazole fluorochrome Hoechst 33342*. -*Br J Cancer*, **60**: 715-21.

ZIMMERMANN, F. A., PISTORIUS, G., GRABOWSKY, K., MOTSCH, J. and MARZI, I. 1989. *Pancreatic autotransplantation in the pig: variations in epigastric arterial blood supply*. -*Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation*, **2**: 193-198.