

Implantación de adenomas paratiroides y paratiroides previo cultivo "in vitro" del implanto

67

Br. HORACIO GOYENA, Dres. URUGUAY LARRE BORGES,
LUIS ALBERTO CAZABAN, MIGUEL MATE
y GUILLERMO MESA *

Uno de los procedimientos empleados para evitar el rechazo de un implanto, es el de cultivar "in vitro" el órgano a injertar, con un tratamiento y durante un tiempo adecuados.

Trabajo presentado al Forum del XXI Congreso Uruguayo de Cirugía. 12/970.

Laboratorio de Cultivo de Tejidos. Dpto. de Histología y Embriología. Prof. Dr. Washington Buño y Laboratorio de Cirugía Experimental. Cátedra de Cirugía. Prof. Dr. Luis María Bosch del Marco.

Asistente del Dpto. de Histología y Embriología, Docentes Adscriptos de Cirugía, Adjunto de Cirugía y Auxiliar de Cirugía. Fac. Med. Montevideo.

Stone y col. (3) 1934, mantienen "in vitro" durante cuatro semanas los implantes de tiroides y paratiroides en un medio que contiene plasma y suero del receptor, con vistas a obtener una "adaptación a la química del huésped". En dos casos tratados así con paratiroides humana, obtienen curación.

Gaillard (1) 1953, hace una revisión de los trabajos realizados hasta esa fecha y concluye que si bien el cultivo previo de paratiroides no sería necesario, los resultados obtenidos por los autores con este método, son superiores a los que otros consiguieron sin ese período "in vitro". Nota, además, que los éxitos sólo se dieron en pacientes que no pasaban de 32 años

de edad. El material fue paratiroides de feto humano a término.

Goldstein y col. (2) 1961. cultivan paratiroides por corto periodo (5 a 6 días) y concluyen que los mejores resultados se obtuvieron con fetos muy jóvenes, de 9 a 12 semanas.

Nosotros hemos cultivado tejidos provenientes de adultos: adenomas paratiroides funcionantes y paratiroides, manteniéndolos "in vitro" por períodos más prolongados, haciendo una sustitución progresiva en el medio de suero del dador por suero del receptor. Se produciría así una modificación favorable en las células para continuar luego viviendo en el organismo del receptor. Este método sólo puede utilizarse con órganos muy pequeños, o que, sin perjuicio, pueden fragmentarse.

El procedimiento que hemos empleado consiste, siguiendo a Trowell, en colocar los fragmentos sobre "lens paper" o una lámina delgada de agar que por su otra cara queda en contacto con el medio nutritivo, sostenida por una rejilla metálica. El resto de la superficie del fragmento queda en contacto con una mezcla gaseosa formada por oxígeno y dióxido de carbono al 5 %, pues si los tejidos y órganos embrionarios soportan bien el grado de anoxia que supone la vida "in vitro" por los procedimientos corrientes con atmósfera de aire, los adultos son muy exigentes en ese sentido.

La cámara de cultivo ideada por Trowell se compone de dos compartimientos. El superior es de cultivo y en él se colocan los fragmentos en las condiciones antes descritas; el inferior es un amplio espacio lleno de carbógeno y comunicado con el otro por pequeños orificios. Una vez desalojado el aire por una corriente de carbógeno se cierra todo herméticamente.

Nosotros no hemos podido disponer de esto y hemos recurrido al procedimiento de vidrios de reloj contenidos en cajas de Petri en las que algodones mojados mantienen la humedad. (Fig. 1) Una lámina de acero inoxidable desplegado apoyada por tres patas sobre el vidrio de reloj, soporta una delgada lámina de agar, que hemos preferido al "lens paper" por no adherir a ella los fragmentos y separarse con suma facilidad. El medio sintético de Eagle más 10 % de suero llena el espacio entre el vidrio de reloj y el agar. Las tapas de las cajas quedan ligeramente levantadas para facilitar el paso de los gases, y así dispuestas se colocan en la estufa a 37° C, a la que se hace llegar en la parte inferior el carbógeno, que sale por un orificio superior. Cuando se considera expulsado el aire, en la iniciación del cultivo y después de cada apertura de la estufa para hacer los cambios de medio, se disminuye a un mínimo de corriente de carbógeno y no se hace cierre hermético.

Con este dispositivo improvisado se consiguió una conservación aceptable, buena y hasta excelente, cultivando fragmentos de 1 a 2,5 mm de espesor. (Se ha observado que en estos procedimientos de cultivo, los fragmentos relativamente grandes se conservan mejor que los muy pequeños).

En los dos casos que se refieren se inició el cultivo poco después de la extirpación qui-

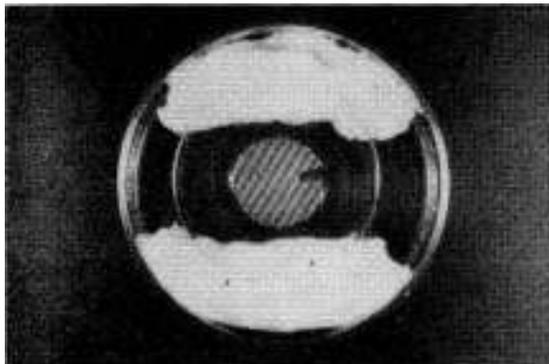


FIG. 1.—Caja de Petri con el dispositivo empleado. Sobre dos algodones empapados en agua asienta el vidrio del reloj y sobre éste se apoya el acero inoxidable desplegado. (No está colocada la lámina de agar.)

rúrgica. Durante el transporte del Hospital al Laboratorio los tejidos se mantuvieron en el medio de cultivo enfriado.

El primer caso es un adenoma paratiroideo que presenta una zona central amplia de tejido conjuntivo escleroso hialino y pigmento sanguíneo de hemorragias viejas, (fig. 2) que se continúa con prolongaciones en la periferia. Esta es de estructura glandular, con células principales en su mayor número y oxífilas (fig. 3). Zonas hemorrágicas subcapsulares y parenquimatosas alternan con otras de aspecto normal (fig. 4). Fue difícil al cortar los fragmentos, de estructura entonces no fácilmente apreciable, no tomar partes con tejido escleroso.

Los fragmentos de este adenoma fueron cultivados en el dispositivo ya descrito, en medio de Eagle y 10 % de suero del dador. Al tercer día se cambió por líquido de la misma composición con objeto de asegurar la adaptación a la vida "in vitro". Luego se empezó la sustitución de suero del dador por suero del receptor, empleándose, en cambios sucesivos cada tres días: $\frac{3}{4}$ del dador y $\frac{1}{4}$ del receptor; partes iguales de ambos; $\frac{1}{4}$ del dador y $\frac{3}{4}$ del receptor y por último puro del receptor, en el que se mantuvieron 5 días. Siem-

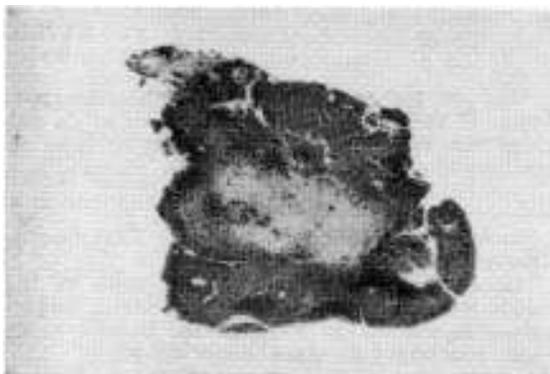


FIG. 2.—Corte histológico del primer adenoma, con la zona central esclero hialina que irradia en la periferia.

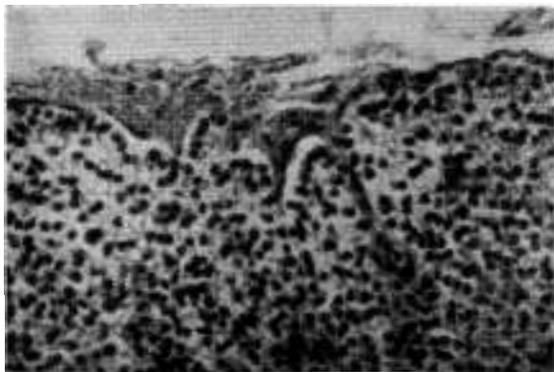


FIG. 3.—Zona vecina a la cápsula. Células principales y escasas oxífilas de citoplasma teñido.



FIG. 4.—Zona subcapsular hemorrágica y hemorragia en focos y difusa en el parénquima subyacente.



FIG. 5.—Corte de un fragmento cultivado 17 días. Areas extensas de tejido escleroso; fuera de ellas células glandulares, tipo célula principal, bien conservadas.

pre la renovación del medio fue parcial, dejándose $\frac{1}{2}$ aproximadamente, del ya acondicionado por la actividad del órgano. La vida "in vitro" se prolongó por un total de 20 días, haciéndose control histológico de la conservación el 17º día. Las células epiteliales están bien conservadas, pero abunda el tejido conjuntivo hialinizado (fig. 5). En el tejido ade-

nomatoso predominan las células principales, observándose pequeños focos de necrosis. El tejido hialinizado, muy frecuente en este adenoma, fue un factor muy desfavorable.

La enferma tratada con estos implantos corresponde a la observación 2 del trabajo del Dr. Cazabán y col.

El segundo es un adenoma paratiroideo rico en tejido glandular típico. Se distinguen bien las células principales y las oxífilas (fig. 7).

En este caso se acortó el tiempo de cultivo pensando que una permanencia excesiva "in vitro" podría alterar demasiado la funcionalidad celular. Se hicieron los cambios de medio nutritivo en la misma forma antes descrita, pero cada dos días en lugar de tres, quedando al comienzo cinco días con sólo suero del dador en el medio. El total de vida "in vitro" fue de 15 días.

El control histológico a los 13 días mostró buena conservación celular (fig. 8) con zonas de necrosis central en algunos fragmentos.

Paratiroides normal, cultivada por separado en la misma forma que el adenoma presentó excelente conservación a los 13-15 días (figs. 9 y 10). No hay diferencia apreciable entre estos fragmentos y la paratiroides normal antes del cultivo.

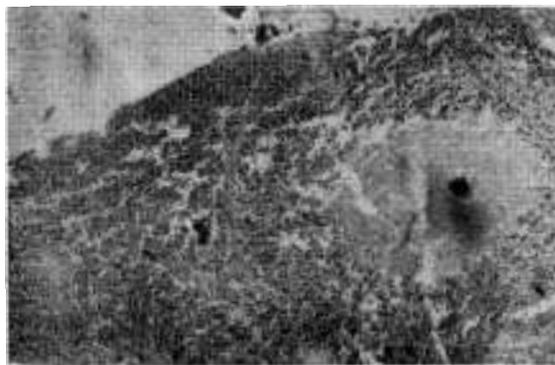


FIG. 6.—Foco de necrosis en un cultivo de 17 días. Trabéculas esclero hialinas surcan el parénquima.

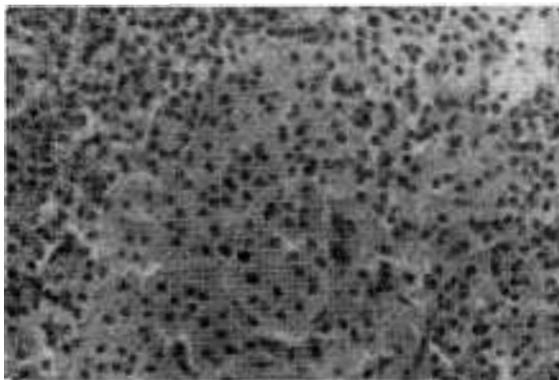


FIG. 7.—Corte del segmento adenoma. Gran aumento. Abundantes células oxífilas teñidas y más escasas de tipo principal.

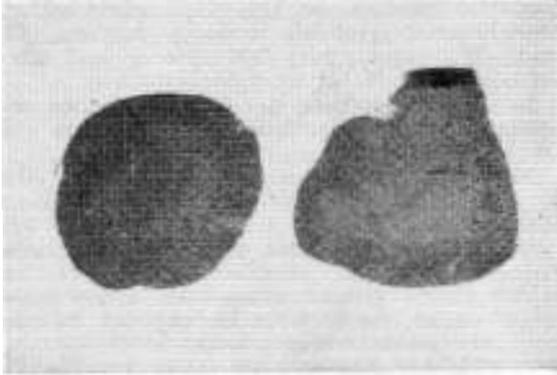


FIG. 8.—Fragmentos después de 13 días de cultivo "in vitro". El de la izquierda íntegramente conservado; el de la derecha con necrosis central.

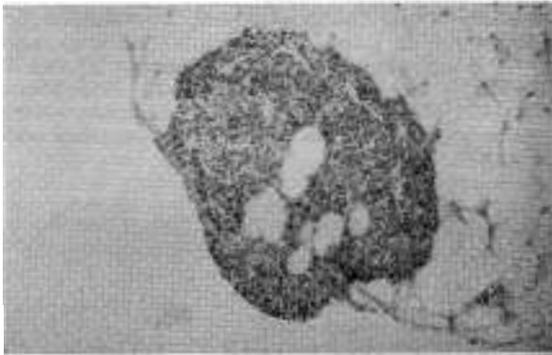


FIG. 9.—Fragmento de paratiroides después de 13 días "in vitro". Muy buena conservación celular. Tejido adiposo normal en el seno del órgano y, a la derecha, fragmento de agar adherido (por excepción) e invadido por fibroblastos.

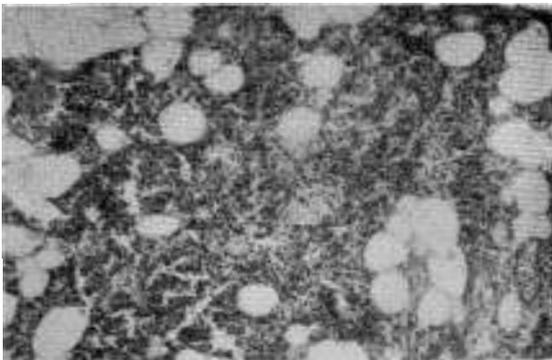


FIG. 10.—Paratiroides después de 15 días. (Término del cultivo). Integridad histológica.

Se había planeado implantar adenoma y paratiroides por separado en dos enfermos, pero no fue posible obtener a tiempo el suero del segundo, y todo se cultivó con un mismo suero de receptor.

La enferma tratada con estos implantes corresponde a la observación 3 de la comunicación del Dr. Cazabán y col., debiendo hacerse notar aquí que las diferencias con el caso anterior fueron: distinta estructura del adenoma, menor permanencia "in vitro" y simultánea implantación de paratiroides.

RESUMEN

Dos adenomas paratiroides funcionantes y una paratiroides humanos fueron utilizados para implante, previo cultivo "in vitro" de los fragmentos.

Se empleó un dispositivo basado en el método descrito por Trowell, que permitió una conservación relativamente buena. A fin de "adaptar el tejido a la química del huésped" se substituyó gradualmente en el medio el suero del donante por el del receptor.

Los resultados fueron más favorables en la enferma tratada con adenoma y paratiroides.

RÉSUMÉ

Deux adenomes parathyroïdes humains ont été employés pour implantation, avec culture "in vitro" préalable des fragments.

On a employé un dispositif basé sur la méthode décrite par Trowell, qui a permis une conservation relativement bonne. Pour "adapter le tissu à la chimie du hôte" on a substitué graduellement dans le milieu, le sérum du donneur pour celui du récepteur.

On a obtenu des résultats plus favorables dans la malade traité avec adenome parathyroïdien et parathyroides.

SUMMARY

Two functioning parathyroid adenomas and one human parathyroid were used for a transplant, previous culturation "in vitro" of the fragments.

A dispositive based in the method described by Trowell that permitted a relatively good conservation was used. The serum of the donor was gradually substituted in the medium by that of the receiver in order to "adapt the tissue to the chemistry of the host".

The results were more satisfactory in the case of the patient treated with adenoma and parathyroid gland.

BIBLIOGRAFIA

1. GAILLARD, P. J. Growth and differentiation of explanted tissues. *Int. Rev. Cytol.* 2, 331, 1953.
2. GOLDSTEIN, M., PAINE, J., KOEPF, G. and CLINTON, M. Homografting of fetal human parathyroids after organ culture. *Int. Symp. Tissue Transpl.* Chile, pág. 226, 1961.
3. STONE, H. B., OWINGS, J. C. and GEY, G. O. Transplantation of living grafts of thyroid and parathyroid. *Lancet*, 226: 625, 1934.
4. TROWELL, O. A. The culture of mature organs in a synthetic medium. *Exp. Cell Res.* 16: 118, 1959.