

CATETERIZACIÓN DE LA VENA PORTA Y ARTERIA CARÓTIDA PARA ESTUDIOS DE METABOLISMO DE NUTRIENTES EN CERDOS IBÉRICO Y LANDRACE

Rodríguez-López, J.M., Lachica, M., González-Valero, L. y Fernández-Figares, I.
Dpto. de Nutrición Animal, Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Camino del Jueves s/n,
18100 Armilla, Granada, Spain. E-mail: manuel.lachica@eez.csic.es

INTRODUCCIÓN

La cateterización de vasos sanguíneos a nivel de tejidos del sistema porta (TSP) es indispensable para estudiar el metabolismo de nutrientes a partir de las diferencias porto-arteriales. La combinación de procedimientos quirúrgicos es amplia, con pocos descritos para cerdos -aún menos para razas no mejoradas-, generalmente con una cateterización directa de la vena porta (VP) y la arteria carótida (AC) con bloqueo del flujo de ésta. El objetivo de este trabajo es describir el diseño de catéteres y del procedimiento quirúrgico para el estudio del metabolismo de nutrientes en los TSP en una raza moderna (Landrace) y otra no mejorada (Ibérico). Se describe un experimento piloto donde se determinó el flujo neto de glucosa en ambas razas para validar el diseño de los catéteres y procedimientos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron cerdas en crecimiento, 3 Ibéricas y 3 Landrace, alimentadas *ad libitum* con una dieta estándar (160 g/Kg PB; 14-14,5 Mj EM/Kg MS). Tras la cirugía eran alimentadas una vez al día (85% *ad libitum*). Se construyeron 3 catéteres de 60 cm de longitud: para la VP (Tygon, d.i. 1,27 mm, d.e. 2,29 mm), vena ileal (VI) y AC (Tygon, d.i. 1,02 mm, d.e. 1,78 mm). Cada catéter llevaba con una separación de 2 mm dos anillos de 2 y 5 mm (Tygon, d.i. 1,6 mm, d.e. 3,2 mm), distal y proximal, respectivamente, al extremo craneal del mismo y pegados con Loctite (Super Glue). Antes del pegado, la parte craneal del anillo de 5 mm fue cortado en 30°. El anillo proximal estaba a 6, 10 y 12 cm del extremo craneal del catéter portal, ileal y carotídeo, respectivamente. El extremo craneal de los catéteres fue cortado en 45° en el lado opuesto a su tendencia de enrollamiento. Los catéteres fueron autoclavados. En la cirugía la anestesia fue inducida usando una combinación I.M. de Ketamina (15 mg/Kg PV):Azaperona (2 mg/Kg PV) y mantenida con halotano (0,5-2%) y O₂ (22-44 ml/Kg PV y min). Las condiciones asépticas y estériles fueron muy estrictas durante todos los procedimientos. Para la cateterización de la VP y VI se realizó en el lado derecho del cerdo una incisión paracostal (20-25 cm) paralela y lo más cercana posible (2-3 cm) a la última costilla. Las capas musculares y el peritoneo fueron cortados con tijeras. Se localizó una rama de la VP en la superficie visceral del lóbulo lateral izquierdo del hígado. Una aguja 14G fue insertada a través del parénquima al final de la parte visible de la rama, retirada e introducida una guía metálica (0,89 mm × 70 cm) para insertar (6 cm) el catéter portal hacia el inicio de la ramificación de la VP en el hígado. Se fijó al parénquima mediante una doble sutura no absorbible (0, 1/2 círculo, cuerpo redondo), la primera anudada entre los dos anillos y la segunda tras el anillo distal, tratando de evitar cualquier daño en la rama de la VP situada bajo el catéter. La adecuada localización del catéter se realizó tomando sangre simultáneamente del propio catéter y directamente de la VP determinando la saturación de O₂ en la hemoglobina mediante un hemoxímetro. A través de la misma incisión, una rama de la VI era disecada y pinchada con una aguja 18G; el catéter se introdujo 10 cm cranealmente, y se aseguró con dos suturas no absorbibles (1, 1/2 círculo, punta triangular invertida), una entre los anillos y otra tras el distal, y alrededor del vaso. Los catéteres fueron llenados con una solución salina heparinizada (250 U.I./ml) y sus extremos cerrados mediante dos nudos. Ambos catéteres eran enhebrados en una aguja colchonera (150×2,5 mm) y exteriorizados a través del proceso lateral de la vértebra situada entre la parte caudal del diafragma y la parte craneal del riñón derecho. La incisión se suturó en tres capas con el peritoneo incluido en la primera capa muscular usando una sutura absorbible (1, 1/2 círculo, cuerpo redondo) continua para la primera y segunda, y una sutura no absorbible (0, 1/2 círculo punta triangular invertida) interrumpida simple para la piel. Un parche (10×8 cm) de venda cohesiva fue pegado con cola de contacto a la piel junto con los catéteres a unos cm del orificio de salida para su protección y mantenerlos enrollados sobre la línea media de la espalda. Para la AC, los cerdos se colocaron en posición dorsal. Se realizó una incisión (10 cm aprox.) a lo largo del surco yugular. La disección sobre la superficie dorsal del músculo esternocefálico expuso la vaina que contiene la arteria. Tras la disección del tejido conectivo

(2-4 cm), la arteria expuesta se trató con dos gotas de lidocaína para evitar su vasoconstricción. Dos pequeños hemostáticos curvos se situaron bajo ella para elevarla, craneal y caudal al punto de inserción del catéter, lo que a su vez bloqueó el flujo sanguíneo. Una sutura no absorbible (4/0, 3/8 círculo, punta triangular invertida) en bolsa de tabaco fue realizada sobre la superficie de la arteria sin perforarla formando un cuadrado (2x2 mm). Mediante un corte en el centro del mismo, el catéter fue insertado (simultáneamente el hemostático craneal era retirado) hacia el arco aórtico. La sutura era apretada y anudada entre los anillos; y una segunda sutura tras el anillo distal asegurada a los tejidos adyacentes. El catéter se exteriorizó caudoventralmente a la oreja y pegó como los anteriores. La capa muscular subcutánea se cerró con una sutura absorbible (1, 1/2 círculo, cuerpo redondo) continua y la piel mediante una no absorbible (0, 1/2 círculo, punta triangular invertida) interrumpida simple.

Se usó Buscapina Compositum como analgésico (5 ml I.M.). Las incisiones fueron tratadas con antibiótico local; además se inyectó I.M. antibióticos de amplio espectro (Duphaphen Strep; 5-10 mg/Kg PV y día) durante cuatro días. Los cerdos recibieron 25, 60 y 100% de la ración diaria el primer, segundo y tercer día tras la cirugía, respectivamente.

El funcionamiento de los catéteres era testado cada 7 días durante 8 semanas. Los catéteres eran cortados lo más cercano al nudo craneal, una jeringa acoplada para el lavado con la solución heparinizada y cerrados de nuevo como ya se ha descrito anteriormente.

Se realizó un experimento piloto para determinar el flujo neto de glucosa a través de los TSP (28 Kg PV). Una dosis de 15 ml de ácido para-aminohipúrico (PAH, 2% w/v) fue infundida en la VI 45 min antes del inicio del muestreo de sangre, seguido de una infusión continua de 0,8 ml/min. Muestras de sangre eran tomadas simultáneamente en tubos heparinizados de la AC y VP -5 min y 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 5 y 6 h después de ingerir 25% de la ración diaria, centrifugados para determinar hematocrito, y el plasma conservado a -20°C hasta su análisis de PAH (Smith et al., 1945; Lobley et al., 1995) y glucosa (Precision PCx Blood Glucose Test Strips). El contenido en hemoglobina fue medido directamente en sangre mediante un hemoxímetro. El flujo de sangre y el neto de glucosa fueron calculados según el principio de Fick. El periodo de muestreo no fue significativo estadísticamente y los datos fueron tratados en conjunto usando un ANOVA-I y un test de Tukey para la comparación múltiple de rangos entre razas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En cerdos, el diseño de catéteres es variado (van Leeuwen et al., 1995; Hooda et al., 2009; Yen y Killefer, 1987; Jørgensen et al., 2010). El anillo proximal era cortado en 30° para mantenerlo tangencial al vaso y evitar su bloqueo al doblarse (van Leeuwen et al., 1995). El extremo craneal del catéter fue cortado en 45° y en el lado contrario al enrollamiento natural de éste para evitar su obstrucción si aquél se situaba contra la pared del vaso. El bloqueo del catéter es un problema en estos estudios. Durante las 8 semanas en que fueron testados sólo tuvimos problema en sacar sangre en alguno de ellos y se solucionó siguiendo las pautas de Huntington et al. (1989).

La mayoría de los trabajos describen un acceso directo a la VP (Rerat et al., 1984; Yen y Killefer, 1987), sólo unos pocos describen un acceso indirecto a través del hígado mediante corte o incisión (Olesen et al., 1989; Jørgensen et al., 2010) lo que produce un tiempo mayor de recuperación que con nuestro método (la ración completa era consumida 3 días después de la cirugía). Aunque la oclusión de una de las AC no ofrece ningún perjuicio para el animal, decidimos usar una sutura en bolsa de tabaco para anclar el catéter y permitir el flujo sanguíneo para disminuir el riesgo de infecciones locales. Quirúrgicamente, las diferencias entre Landrace e Ibéricos se encontraron en el mayor depósito graso y menor distancia entre el riñón y el diafragma de éstos, con el consiguiente peligro de causar un pneumotórax en la exteriorización de los catéteres.

El chequeo de los catéteres es diario en la mayoría de trabajos publicados. Sin embargo, se realizó una vez por semana (Smith et al., 1991) evitando así contaminaciones causantes del bloqueo de los mismos. Su periodo de funcionamiento es variable (12 semanas mínimo reportó van Leeuwen et al., 1995). Fueron mantenidos durante 8 semanas, periodo suficiente para realizar estudios de cinética de nutrientes en animales en crecimiento.

Para Landrace el flujo portal (Tabla 1) fue similar a los datos publicados (Yen y Killefer, 1987; van der Meulen et al., 1997; Yen et al., 2004; Hooda et al., 2009; Jørgensen et al.,

2010). No así para Ibéricos, menor ($P<0,05$) que en Landrace, con un mayor hematocrito y concentración de hemoglobina ($P<0,05$), lo que explicaría su menor flujo portal. El valor de flujo neto de glucosa (Tabla 1) está en el rango de los publicados (Rérat et al., 1984; Prior y Gross, 1995; van der Meulen et al., 1997; Kristensen et al., 2009), si bien, diferencias en composición de la dieta pueden afectarlo y la comparación tiene que tomarse con cautela. La metodología aplicada es adecuada para cerdos y permite explicar diferencias en las capacidades digestivas y de absorción entre razas modernas y no mejoradas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Hooda, S., Matte, J.J., Wilkinson, C.W., Zijlstra, R.T. 2009. J. Anim. Sci. 87: 2013-2019.
- Huntington, G.B., Reynolds C.K., Stroud, B.R. 1989. J. Dairy Sci. 72: 1583-1595.
- Jørgensen, H., Serena, A., Theil, P.K., Engberg, R.M. 2010. Livest. Sci. 133: 57-60.
- Kristensen, N.B., Nørgaard, J.V., Wamberg, S., Engbæk, M., Fernández, J.A., Zacho, H.D., Poulsen, H.D. 2009. J. Anim. Sci. 87: 2815-2822.
- Lobley, G.E., Connell, A., Lomax, M.A., Brown, D.S., Milne, E., Calder, A.G., Farningham, D.A.H. 1995. Br. J. Nutr. 73: 667-685.
- Olesen, H.P., Sjøntoft, E., Tronier, B. 1989. Lab. Anim. Sci. 39: 429-432.
- Prior, R.L. Gross, K.L. 1995. J. Nutr. 125: 251-263.
- Rerat, A., Vaissade, P., Vaugelade, P. 1984. Br. J. Nutr. 51: 517-529.
- Smith, H.W., Finkelstein, N., Aliminosa, L., Crawford, B., Graber, M. 1945. J. Clin. Invest. 24: 388-404.
- Smith, S., Dawson, S., Hennessey, R., Andrew, M. 1991. Am. J. Pediatr. Hematol. Oncol. 13: 141-143.
- van der Meulen, J., Bakker, G.C.M., Bakker, J.G.M., de Visser, H., Jongbloed, A.W., Everts, H. 1997. J. Anim. Sci. 75: 2697-2704.
- van Leeuwen, P., Leuvenink, H.G.D., Haasbroek, W.M., Priem, G., Bosch, M., van Kleef, D.J. 1995. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.) 73: 38-46.
- Yen, J.T., Killefer, J. 1987. J. Anim. Sci. 64: 923-934.
- Yen, J.T., Varel, V.H., Nienaber, J.A. 2004. J. Anim. Sci. 82: 1740-1755.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el proyecto AGL 2006-05937/GAN del Ministerio de Educación y Ciencia de España (fondos FEDER).

Tabla 1. Flujo portal pre y postprandial, hematocrito, concentración de hemoglobina y flujo neto de glucosa en cerdos Ibéricos y Landrace ($n=3$; valores medios \pm EEM para 10 medidas postprandiales)

	Ibérico	Landrace	EEM ¹
Flujo portal (ml/min)			
Preprandial ²	563 ^a	1059 ^b	36
Postprandial	866 ^a	1464 ^b	45
Hematocrito (%)	30,3 ^a	25,9 ^b	0,27
Hemoglobina (mmol/L)	6,3 ^a	5,7 ^b	0,03
Flujo neto de glucosa (mg/min)	221 ^a	225 ^a	35

¹Error estándar de la media.

²Valores medios \pm EEM para una medida preprandial.

^{ab}Para las comparaciones realizadas, valores dentro de la misma fila con distinto superíndice eran significativamente diferentes ($P<0,05$).

CATHETERIZATION OF PORTAL VEIN AND CAROTID ARTERY FOR STUDIES OF NUTRIENT METABOLISM IN IBERIAN AND LANDRACE PIGS

ABSTRACT: The aim of the present work is to report the catheters design and the surgical method followed for long-term nutrient metabolism studies of the portal drained viscera on a modern (Landrace) and a native (Iberian) breed. It is described a pilot experiment where net flux of glucose was measured to validate the functionality of the catheters design and catheterization method using three Landrace and three Iberian gilts fitted with catheters in carotid artery and portal vein for blood sampling, and ileal vein for para-aminohippuric acid infusion to measure blood flow, and glucose net flux rates. Surgery recovery, catheter patency and results from pilot experiment were excellent. The procedure followed is suitable for pigs and could explain differences in digestive and absorptive capacities between modern and native breeds.

Keywords: catheterization, Iberian pig, portal drained viscera