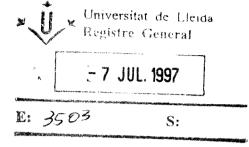
Man PART I

UNIVERSIDAD DE LLEIDA

FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

"MEDIOS DE PRESERVACIÓN EN EL TRANSPLANTE DE INTESTINO DELGADO. ESTUDIO EXPERIMENTAL EN LA RATA".



LUIS MANUEL MARCO ESTARREADO

LLEIDA 1997

DR. D. LUIS PEREZ RUIZ, PROFESOR DE PATOLOGIA Y CLINICA QUIRURGICA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE LLEIDA.

CERTIFICA:

Que D. Luis Manuel Marco Estarreado, licenciado en Medicina y Cirugía, ha realizado el presente trabajo de investigación sobre "Medios de preservación en el transplante de intestino delgado. Estudio experimental en la rata.", que va a presentar como Tesis Doctoral, bajo mi dirección. Y que he revisado dicho trabajo, estimando que cumple las condiciones científicas y formales que deben serle exigidas.

En Lleida, a treinta de Enero de mil novecientos noventa y siete.

Fdo. Dr. Luis Pérez Ruiz

A Matilde, mi esposa, y a mis hijos Laura y Pablo, por su compañia, apoyo y por los sacrificios realizados por mis ausencias debidas a las horas ocupadas con este trabajo soportando más o menos estóicamente los diferentes momentos vividos en el desarrollo de un trabajo doctoral.

Al Prof.. Pérez Ruiz, inspirador de este trabajo, maestro que me enseñó mis primeros pasos en la microcirugía experimental y que me inició en el campo de la investigación y la experimentación, mi agradecimiento por su apoyo, motivación y por haberme descubierto el mar más allá de la orilla.

Al Dr. Egido, por sus orientaciones en la histología.

A la Dra. Carme Piñol, compañera de los Cursos de doctorado y de muchas tardes de trabajo de laboratorio, mi agradecimiento por su colaboración y ayuda.

Al Dr. Xavier Gómez, por su colaboración en el árido campo estadístico que ha sabido convertirlo en inestimable herramienta de trabajo.

Al personal de la Facultad de Medicina de Lleida, a Manolo Santiago por su colaboración en el manejo y cuidado de los animales y a Xavier Calomarde por su ayuda y enseñanzas en las técnicas de laboratorio.

ÍNDICE

Página
Indice 1
1 INTRODUCCION
1.1 Historia del transplante experimental de intestino delgado 5
1.2 Historia de transplante de intestino delgado en el humano
1.3 Fisiopatologia del transplante de intestino delgado
1.3.1 El shunt porto cava
1.3.1.1 Consecuencias metabólicas
1.3.1.2 Consecuencias hemodinámicas
1.3.1.3 Consecuencias neurológicas
1.3.1.4 Consecuencias hormonales
1.3.1.5 Consecuencias inmunológicas
1.3.2 Efectos de la denervación del intestino delgado
1.3.3 Efectos de la alteración del drenaje linfático
1.3.4 Absorción de nutrientes
1.4 Inmunología del transplante de intestino delgado

1.4.1 Sistema inmunológico intestinal.	27
1.4.2 Inmunología del transplante de órganos en la rata	28
1.4.2.1 Reacción de rechazo.	29
1.4.2.2 Reacción de injerto contra huésped, (GVHD).	36
1.4.3 Inmunosupresión.	40
1.5 Características histológicas del intestino delgado.	45
1.6 Preservación de intestino.	54
2 JUSTIFICACIÓN DEL TEMA	58
3 HIPOTESIS	61
4 OBJETIVOS	63
5 MATERIAL Y METODOS	65
5.1 Población de estudio.	66
5.2 Variables de estudio	67
5.3 Procedimientos	68
5.4 Descripción análisis estadístico	75

Medios	de preservación	en	el transplante	de intestino	delgado
Estudio	experimental er	la	rata.		

6 RESULTADOS	78
6.1 Descriptiva	79
6.2 Análisis estadístico bivariante	110
6.3 Análisis estadístico multivariante	114
7 DISCUSION.	145
8RESUMEN	159
9CONCLUSIONES	161
10BIBLIOGRAFIA	163

Medios de preservación en el transplante de intestino delgado. Estudio experimental en la rata

INTRODUCCION

INTRODUCCION

1.1.- HISTORIA DEL TRANSPLANTE EXPERIMENTAL DE INTESTINO DELGADO.-

La primera referencia sobre transplante de intestino delgado viene fechada en 1907 y se atribuye a Alexis Carrell, (1), que lo realizó en un perro al que extrajo una porción de intestino delgado con su pedículo vascular que anastomosó al cuello, a la arteria carótida y vena yugular, suturando las porciones distales de intestino a la piel. El transplante fracasó por la aparición de un abceso en el cuello si bien el injerto se vascularizó presentando la porción de intestino un aspecto totalmente normal e incluso se recuperó la función secretora aunque se tuvo que retirar el asa transplantada.

Lillehei i cols. (2, 3), en 1959, realizaron el primer autotransplante ortotópico de intestino delgado aislando todo el intestino junto con los vasos mesentéricos perfundiéndolo a través de la arteria mesentérica con suero salino a 4°C. En el animal receptor se realizaba una anastómosis término-terminal entre los vasos meséntericos del injerto y del receptor, resecando el intestino del mismo. El intestino del injerto se anastomosó al duodeno y al c colon del receptor de forma término-terminal con sutura continua. Tras unas 2 semanas de diarrea y esteatorrea las heces fueron normales. A las tres semanas se comprobó regeneración del drenaje linfático por inyección de contraste en la pared intestinal que se detectaba posteriormente en el conducto torácico. Algunos animales llegaron a sobrevivir varios años, (4), y después de sacrificarlos se comprobó histológicamente que había habido regeneración linfática y que el intestino transplantado era, macro y microscópicamente, indestinguible del receptor. Como medios inmunosupresores se utilizaban azatioprina y esteroides.

La ampliación de su modelo a la utilización de aloinjertos en animales no inmunosuprimidos, llevaron a la muerte de los mismos a los 6 o 10 días. En el estudio necrópsico se encontraba únicamente un aumento del volumen de los ganglios mesentéricos; el injerto era de características normales y no se halló una causa evidente de muerte.

Lillehei sugería que la causa de la muerte podía ser causada por una reacción de injerto contra huésped o "graft versus host disease" (GVHD). Los animales tratados con inmunosupresores (azatioprina y esteroides) sobrevivían varias semanas y en la autopsia los hallazgos encontrados eran alteraciones en el injerto con sangrado de la mucosa, pérdida de la membrana basal, atrofia de las vellosidades intestinales, engrosamiento de la pared intestinal, perforaciones e infiltrados de células monocitarias, hallazgos claramente provocados por un rechazo del injerto.

Estos procedimientos tenían una mortalidad muy elevada, 70%, (5), debido a la dificultad técnica de las anastómosis vasculares, a la sepsis, a la fuga linfática y al edema de la pared intestinal con el consiguiente éstasis y disminución del flujo esplácnico. Sin embargo la experiencia de los autores y la estandarización de la técnica lograron mejores resultados y fue realizada por otros equipos.

Experiencias posteriores demostraron que la reacción de rechazo y la de injerto contra huésped podían ocurrir a la vez y que el predominio de una u otra estaba en relación con la longitud de la porción intestinal, transplantada con su tejido linfoide correspondiente. Si predominaban los ganglios linfáticos ocurría la reacción de injerto contra huésped y si se extirpaban los ganglios o la porción de intestino era más corta el rechazo era la reacción predominante.

Se observó que la dificultad para evitar estas reacciones, mediante inmunosupresores convencionales, era mayor que en el resto de órganos, por lo que se ensayó la irradiación del intestino, previa al transplante, para intentar eliminar los linfocitos del injerto. El someter el intestino a transplantar a grandes dosis de radiación favorecían la reacción de rechazo y si las dosis eran bajas se producía la GVHD.

Monchick y Rusell (6), en 1971, desarrollaron el modelo de transplante de intestino en rata aplicando técnicas de microcirugía en las anastómosis vasculares; los extremos se exteriorizaban al exterior mediante duodenostomia e ileostomia permaneciendo el intestino del receptor *in situ*. Estos autores utilizaban combinaciones genéticas de animales, PF-1 (transplante de padres a hijos de la primera generación), consiguiendo parcialmente controlar las reacciones de rechazo y de GVHD. La gran aportación de Monchick y Rusell al transplante intestinal fue la

sencillez de la técnica y la economía en tiempo y en coste, a parte de introducir a la rata como animal de experimentación.

Kort y col. (7), realizaron en 1973 el primer transplante ortotópico en rata en un solo tiempo practicando una resección del intestino del receptor una vez comprobada la vascularización del injerto con anastómosis término-terminal, entre los extremos proximales y distales de las porciones de intestino del receptor y del injerto, con sutura continua evertida con seda de 7/0. Así mismo potenciaron el uso del drenaje venoso del injerto a través de la vena porta comprobando que había un rechazo menos vigoroso aumentando la supervivencia. También se han realizado drenajes venosos al pedículo esplénico, (8), para evitar los cambios fisiológicos y metabólicos similares a los del shunt portosistémico como la disminución de triglicéridos, aumento de la fosfatasa alcalina, disminución de proteínas totales, aumento del amonio sérico, etc.. Estas alteraciones no son determinantes, debido a que se pueden corregir con modificaciones dietéticas, para recomendar un tipo de drenaje u otro, (9, 10). La mayoría de autores realizan el drenaje venoso a la cava por una mayor facilidad técnica en pequeños animales.

La preocupación por el drenaje linfático del intestino transplantado llevó a Thiede (11) a realizar importantes contribuciones en este campo llegando a canularlo para su drenaje al exterior.

Al introducirse la Ciclosporina A (CsA) como inmunosupresora, se utilizó en este tipo de transplantes siendo Reznick y cols. (12), los que en 1982 obtuvieron en el transplante ortotópico de intestino en el perro una mayor supervivencia en relación a los animales no tratados. La dosis de CsA era de 25 mg/Kg. por vía intramuscular en dosis diaria única. Los animales tratados sobrevivían una media de 103 días por 12 en los no tratados.

Se realizaron estudios en los que la administración de la CsA era por vía oral (4) pero no se obtuvieron los mismos efectos debido a la dificultad de absorción del intestino, principalmente en los primeros días postransplante. En 1984 Ricou (13),realizó un estudio sobre la administración de CsA, en transplante intestinal en cerdo por vía oral, intramuscular e intravenosa poniendo de manifiesto la insuficiencia

de la vía oral, principalmente en los primeros días, en comparación con la vía parenteral.

En 1966, Ballinger estudió la absorción de nutrientes en el transplante de intestino delgado utilizando el test de la D-Xilosa y la absorción de grasas en perros demostrando, junto a otros autores como Ruiz y cols (14) y Reznick y cols. (12), que la absorción de la D-Xilosa, tanto en isoinjertos como en aloinjertos con inmunosupresión, estaba deteriorada en los primeros 4 a 6 meses después del transplante aunque los animales recuperaban en el primer o segundo mes su peso normal.

Actualmente la investigación dentro del transplante intestinal se realiza en diferentes campos, siendo los más importantes el uso de nuevos agentes inmunosupresores como el Tacrolimus/FK-506 (15, 16, 17, 18, 19, 20) y la rapamicina (21), el estudio de soluciones de preservación del injerto, y el transplante multiorgánico en el que se injertan varias de la vísceras abdominales, páncreas, bazo, intestino delgado, hígado y riñón (21a, 22).

1.2.- HISTORIA DEL TRANSPLANTE DE INTESTINO DELGADO EN EL HUMANO.-

Hasta la puesta en práctica de la nutrición parenteral todos los enfermos que sufrían la pérdida de intestino morían por desnutrición. Cuando esta alimentación estuvo disponible los pacientes se liberaron de una muerte segura, pero se vieron sometidos a la dependencia de un programa de nutrición parenteral hospitalaria, siendo unos pocos los que podían regresar a sus hogares siguiendo un programa de nutrición parenteral domiciliaria.

El éxito de los transplantes experimentales de intestino estimuló a los cirujanos a intentar el transplante clínico de intestino. Así, Deterling (23) realizó en 1964 los dos primeros intentos, falleciendo en el primero el receptor a las 12 horas y en el segundo tuvo que ser retirado el injerto a las 48 horas del transplante, debido a necrosis.

En 1967, Lillehei (24) transplantó un intestino delgado procedente de donante de cadáver a una mujer de 46 años que había perdido su intestino por una trombosis mesentérica; los extremos del injerto fueron abocados al exterior para una restablecimiento de continuidad posterior pero que no pudo llevarse a cabo por fallecimiento de la paciente a las 12 horas de la intervención quirúrgica.

En 1968, Okumura (25) en Brasil transplantó un injerto de 1,70 m. a una mujer de 34 años que había sufrido también un trombosis mesentérica con exteriorización de ambos extremos mediante ostomías. Al 6º día apareció necrosis isquémica de ambas ostomías, lo que obligó a retirar al 10º día el injerto falleciendo la paciente dos días después debido a trastornos electrolíticos.

En 1969, Olivier (26) en París intentó el transplante intestinal a un hombre de 35 años que sufría una variante del síndrome de Gardner al que se le había extirpado todo el intestino delgado y el colon izquierdo; los vasos del injerto fueron anastomosados a la vena porta y a la arteria mesentérica del receptor, el yeyuno del receptor fue anastomosado al yeyuno del injerto y la porción distal de este fue abocada al exterior por medio de una colostomia. Era la primera vez que se colocaba el intestino de forma ortotópica e inmediatamente después de la intervención se inició

tratamiento inmunosupresor con azatioprina, corticosteroides y globulina antilinfocitaria. A las dos semanas fue reintervenido por sospecha de rechazo agudo y se encontró el intestino permeable con pequeñas hemorragias y edematoso; se cambió el inmunosupresor a 6-mercaptopurina y a los 3 días el injerto se necrosó falleciendo el paciente a los 26 días de la primera intervención por complicaciones sépticas. En la necropsia se encontraron por primera vez, como causa de muerte, signos de rechazo como el intestino cianótico y distendido con la mucosa ulcerada y hemorrágica, trombosis capilar y signos de infiltración mononuclear en toda la pared intestinal.

Alican (27), en 1969, intervino a un niño de 8 años en la Universidad de Mississipi por la pérdida de todo el intestino delgado debida a la necrosis mesentérica que había producido una brida. Recibió un injerto de 1 metro de yeyuno ileal procedente de la madre. La vena mesentérica se anastomosó termino-lateralmente a la vena renal y la arteria mesentérica, de la misma forma a la aorta. Los dos extremos del injerto fueron abocados al exterior. Fue tratado con corticosteroides, suero antilinfocitario y azatioprina llevando un curso normal hasta el 7º día en que las enterostomias presentaron un aspecto necrótico y el paciente presentó sepsis. En la laparotomía posterior se encontró una úlcera duodenal perforada y las anastómosis vasculares permeables; se extrajo el injerto al considerar que se hallaba hipoperfundido y a pesar de ello el paciente falleció a los 32 días del transplante.

Una mujer de 37 años fue sometida a un transplante intestinal en 1970 por Fortner (28) debido a que le habían extirpado todo el intestino delgado y parte del colon por padecer un síndrome de Gardner. Recibió, de su hermana HLA idéntica, 1,70 m. de yeyuno distal e íleon proximal, anastomosando los vasos mesentéricos a los vasos iliacos del receptor y colocando el injerto de manera ortotópica por medio de una duodeno-yeyunostomia y una ileo-colostomia, dejando una asa aislada de yeyuno bajo la piel para controlar el injerto; se inició tratamiento inmunosupresor habitual (azatioprina, prednisona y globulina antilinfocitaria). A la semana aparecieron heces semiformadas, iniciándose la ingesta oral 3 semanas después. A los 18 días apareció un episodio de rechazo, isquemia en la biopsia de mucosa yeyunal, y que fue tratado, con éxito, con esteroides. Durante 2 meses la paciente toleró la ingesta oral, suplementada con nutrición parenteral, si bien después apareció debilidad muscular, insuficiencia hepática y sepsis, falleciendo la paciente a los 76 días del transplante. En

la necropsia se encontraron las anastómosis vasculares permeables, el injerto atrófico y el hígado con signos de esteatosis. Se pensó en que la causa de la muerte pudiera haber sido una reacción contra huésped. En este transplante, por primera vez, un paciente injería alimentos por vía oral y la supervivencia fue la más larga hasta aquel momento.

En 1984, Starzl (29) realizó 2 transplantes pancreato-duodenales en los que incluía segmentos de yeyuno. Utilizó por primera vez ciclosporina con esteroides pero los pacientes sufrieron diarreas acuosas e hipoalbuminemia importante que obligaron a la extirpación del injerto. Histológicamente se encontraron cambios inflamatorios en la mucosa con signos de regeneración, pero no se pudo objetivar la causa de la enteropatía con pérdida de proteínas.

En 1985, Cohen (30), realizó un transplante a un paciente de 26 años que había perdido todo el intestino delgado y parte del colon por un tumor desmoide en la raíz del mesenterio, anastomosando los vasos mesentéricos a la aorta y a la cava del receptor utilizando como inmunosupresores ciclosporina y esteroides. Al 5º día apareció un episodio de hemólisis debida a anticuerpos antigrupo sanguíneo A, producidos supuestamente por los linfocitos del injerto. El paciente entró en coma al 9º día reinterviniéndose al día siguiente, encontrando el injerto totalmente normal, a pesar de lo cual le fue extirpado y el paciente falleció al día siguiente. En la necropsia se encontró un infarto cerebral como causa del coma y un injerto con una estructura normal a pesar de presentar un infiltrado mononuclear.

En estos años se llevaron a la práctica diversos transplantes de páncreas, (31), que llevaban asociados una porción duodenal, tratados con CsA, azatioprina y esteroides, permaneciendo mucho tiempo viables y la porción duodenal no presentaba signos de destrucción mucosa ni de fibrosis.

Un niño de 8 años portador de una neuromiopatía que afectaba todo el tracto gastrointestinal fue intervenido por Grant (32) debido a una hepatopatia secundaria a la no tolerancia de la nutrición parenteral total a la que era sometido por la resección de intestino que tuvo que llevarse a cabo por los cuadros continuos de pseudo obstrucción que padecía. El injerto se obtuvo de un niño de 6 años con igual grupo sanguíneo que fue tratado antes de la operación con anticuerpos (Ac) monoclonales OKT3, se efectuó un transplante ortotópico con anastómosis término-laterales entre

la arteria mesentérica y la aorta, por un lado, y la vena mesentérica y la porta por el otro; se reconstruyó el tránsito intestinal por medio de una duodeno-yeyunostomia e ileostomia terminal. La terapia inmunosupresora se realizó con CsA, metilprednisolona, azatioprina y globulina antilinfocitaria. Si bien en un principio se recuperó el peristaltismo intestinal y se inició al 5° día alimentación enteral, apareció al 10° día distensión abdominal con signos de rechazo en la biopsia del 12° día. Al 15 día se extirpó el injerto debido a la presencia de placas de necrosis que alternaban con mucosa normal, lo cual ponía de manifiesto que las biopsia no eran del todo fiables a la hora de diagnosticar el rechazo, ya que las alteraciones no eran uniformes pudiendo encontrarse mucosa alterada junto a otra intacta. En este caso fue el primero en que se trató el injerto con Ac monoclonales para procurar evitar o disminuir la reacción de injerto contra huésped.

En 1987, Deltz (33) en Kiel (Alemania) transplantó el intestino procedente de la madre a un niño de 5 años, pero el injerto fue extirpado por un reacción de rechazo. Al año siguiente una mujer de 42 años que había perdido su intestino por isquemia mesentérica recibió un aloinjerto de 60 cm. procedente de una hermana. La revascularización se realizó mediante anastómosis vasculares mesentérico-iliacas y ambos extremos del intestino fueron exteriorizados. La inmunosupresión se realizó con CsA, globulina antimitocito y esteroides y tras comprobar la capacidad absortiva del asa transplantada se reconstruyó el tránsito intestinal a las 6 semanas. A las 12 semanas se comenzó con ingesta oral y se disminuyó la alimentación parenteral, no conociéndose su evolución posterior. Algunos episodios de rechazo fueron controlados con la administración de bolus de esteroides y globulina antilinfocitaria.

También se han realizado transplantes multiorgánicos (34, 35), que incluían intestino delgado. Algunas experiencias indicaban que el hígado, si formaba parte de un transplante mutiorgánico, presentaba episodios de rechazo menos intensos.

Starzl en 1983 (36), realizó el primero de ellos a una niña de 6 años que había perdido el intestino delgado tras un accidente y que con alimentación i.v. sufrió al año un fallo hepático por lo que recibió un injerto de un varón de 27 años compuesto por: estómago, duodeno, páncreas, bazo, intestino delgado, colon, hígado y ambos riñones. Tras desclampar los vasos el injerto se revascularizó con normalidad, pero debido a una diátesis hemorrágica que precisó más de 60 litros de

sangre transfundida falleció a la media hora de ingresar en la UVI. La causa de muerte fue debida a una embolia pulmonar masiva presentando, así mismo, una endocarditis. El mismo Starzl volvió a realizar un transplante multivisceral, en esta ocasión a una niña de 3 años por una necrosis de intestino delgado debida a un vólvulo completo y que sufrió un fallo hepático por lo que se le transplantaron los mismos órganos que el caso anterior con la excepción de los riñones. El postoperatorio fue normal y a las 2 semanas se inició alimentación por una sonda nasoyeyunal y a las 3 semanas por sonda nasogástrica. La tolerancia fue excelente y a los 135 días recibía únicamente dieta oral. La inmunosupresión utilizada fue: CsA, metilprednisolona, Ac monoclonales OKT3, aztioprina e irradiación del abdomen después del transplante para prevenir la reacción de injerto contra huésped. Una enfermedad linfoproliferativa aparecida a los 91 días ocasionó el fallecimiento de la niña a los 165 días de la intervención debido a una sepsis. En la necropsia, el intestino delgado presentaba 2 perforaciones no encontrando evidencia de rechazo ni de reacción de injerto contra huésped. El resto de órganos transplantados tampoco presentaban signos de rechazo y habían funcionado con normalidad durante mucho tiempo.

Williams (37), realizó 2 transplantes en 1989. El primero, un niño de 17 meses que debido a una gastrosquisis había perdido el intestino desde el duodeno hasta el ángulo esplénico del colon, recibió un transplante de un donante de su mismo peso, que incluía una porción de estómago, duodeno, páncreas, hígado, intestino delgado y parte de la aorta. Se irradió el injerto previamente a la operación en la que los extremos del tubo digestivo se abocaron al exterior, cerrando el abdomen con una malla para evitar tensión en la linea de sutura. Al 4º día sufrió una hemorragia por la anastómosis aorto-aórtica que fue reparada quirúrgicamente en una nueva reintervención aunque no se pudo evitar el fallecimiento posterior. En la autopsia se apreció necrosis isquémica de la aorta del receptor debida seguramente a una anastómosis a tensión, el intestino delgado y el resto de las vísceras eran completamente normales. El segundo caso era un niño de 9 años que sufrió una necrosis intestinal debida a un vólvulo y que recibió un injerto de una niña de 10 días. La intervención fue similar a la anterior pero el injerto sufrió previamente una mayor dosis de radiación y fue tratado con OKT3. A los 12 días sufrió un taponamiento pericárdico y a los 16 días presentó un cuadro de sepsis por la que fue reintervenida

encontrándose una perforación de yeyuno. Diez días más tarde fue cerrada otra perforación y a los 40 días comenzó la nutrición entérica. A los 109 días falleció por sepsis habiéndose observado previamente un proceso linfoproliferativo con presencia de anticuerpos anti Epstein-Barr. En la necropsia se vieron todas las vísceras abdominales infiltradas por un linfoma tipo Burkitt.

En 1988, Grant (35) transplantó hígado e intestino delgado a una mujer de 41 años afecta de hepatopatia y síndrome de intestino corto. La donante fue una paciente de 50 años que falleció como consecuencia de una hemorragia subaracnoidea; la intervención duró 12 horas y la inmunosupresión fue la descrita anteriormente. Una semana después comenzó la alimentación por sonda enteral a pesar de haberse complicado la intervención con un abceso intraabdominal, infección de un catéter que necesitó de toracotomía para su extracción y una insuficiencia respiratoria que requirió traqueotomía e intubación; también aparecieron varios episodios de rechazo que se trataron con OKT3. La recuperación fue satisfactoria y a los 8 meses fue dada de alta hospitalaria con dieta por vía oral y sin restricciones. Era la 1ª vez que una paciente portadora de un transplante de intestino delgado reanudaba una actividad totalmente normal. No se sabe su evolución posterior.

Goulet. (38), realizó nueve intentos de transplante en siete niños de los cuales solo en un caso permaneció el injerto viable tres años después de la intervención, los otros casos fracasaron por rechazo o por necrosis del intestino transplantado, causa por la que tuvo que ser extraído.

Schoroender (39) recogió esta experiencia y de Marzo del 87 a Julio del 90 se realizaron 15 transplantes en 12 pacientes, cuatro de ellos seguían funcionando en esta fecha únicamente con alimentación por vía oral.

Mcalister (40), llevó a cabo varios transplantes de intestino delgado solo o en combinación con otros órganos abdominales como el hígado. El intestino transplantado solo tuvo que ser extraído en un caso a los 15 días de la intervención por rechazo no controlable. Dos de los tres pacientes que recibieron un transplante combinado de hígado e intestino delgado viven en la actualidad utilizando CsA.

Todo y cols. (41), realizaron 5 transplantes de intestino delgado, 4 de ellos combinados con transplante de hígado, utilizando como inmunosupresor FK506. En todos ellos los pacientes ganaron peso y se independizaron de la nutrición parenteral.

Hasta 1991, Starzl (42) presentaba 8 casos de transplante combinado de intestino delgado e hígado dependientes solo de alimentación por vía oral, otros 8 pacientes vivos con transplante de intestino solo y 3 pacientes receptores de varios órganos. Tuvo una mortalidad del 17% con un seguimiento mínimo de tres meses. La inmunosupresión principal utilizada, sola o en combinación, fue el FK-506.

Uno de los casos de supervivencia más larga fue el comunicado por Revillon (38) que, debido a una extirpación de intestino por un vólvulo completo, transplantó 95 cm. de intestino procedente de un anencéfalo a un recién nacido que superó varios episodios de rechazo recuperando la función intestinal a los 6 días después del transplante, permaneciendo con alimentación enteral e inmunosupresión por vía oral.

Frezza et al (43), pertenecientes al grupo de Pittsburgh, presentan una serie de 36 transplantes realizados a niños y adultos con una supervivencia de 28 pacientes. La mayoría de transplantes de intestino se realizaron conjuntamente con el de hígado. Como inmunosupresión utilizaron CsA y FK 506, mostrándose esta última superior a la cyclosporina.

Las indicaciones de transplante intestinal, (43, 44), son todas aquellas que comporten un fracaso total de la función intestinal provocando un síndrome de intestino corto y obligando a realizar un tratamiento con nutrición parenteral (TPN). También se incluyen los que desarrollan un fracaso hepático como consecuencia de la TPN, siendo indicación de transplante combinado de hígado e intestino delgado.

Siguiendo a Frezza (43) y Balen (44), puede realizarse la siguiente clasificación de indicaciones de transplante intestinal:

INDICACIONES.-

Enfermedades vasculares:

Trombosis mesentérica o del tronco celiaco;

Oclusión de la arteria mesentérica superior por embolia o por trombosis

Traumatismos de la arteria mesentérica

Vasculitis

Invaginación intestinal con gangrena

Enfermedades intestinales primarias:

Enfermedad de Crohn

Enfermedades de malabsorción

Enteritis por radiación

Síndrome de Gardner

Yatrogenia en anastómosis yeyuno-ileal

Enterocolitis necrotizante

Anomalías neuroendocrinas:

Aganglionosis

Alteraciones de la motilidad intestinal

Anomalías congénitas:

Atresia intestinal

Enfermedad microvellosa por cuerpos de inclusión

Las contraindicaciones absolutas del transplante de intestino delgado son (43):

CONTRAINDICACIONES ABSOLUTAS.-

Sepsis que implique un fracaso multisistémico

Presencia de metástasis

Dependencia de drogas

Neumonía

Enfermedad cardiopulmonar avanzada

SIDA

Disfunción neurológica avanzada que implique otros órganos aparte del intestino.

Cirrosis (indicación de transplante de hígado + intes. delgado).

Las contraindicaciones relativas son (44):

CONTRAINDICACIONES RELATIVAS.-

Neoplasia intestinal
Fracaso renal severo
Edad superior a 45 años
Trombosis vena porta
Portador asintomático de HIV

El futuro del transplante intestinal en el humano pasa por superar grandes problemas como la sepsis y la inmunosupresión. El alto porcentaje de sepsis postransplante es debido, por un lado, a la disminución de la función de barrera del intestino por la inmunosupresión, y por otro a que la isquemia y el rechazo del órgano aumentan la permeabilidad del mismo permitiendo el paso de gérmenes y toxinas, llevando esta situación al sobrecrecimiento y a la traslocación bacteriana (45). Las medidas encaminadas a proteger este efecto barrera del intestino como la alimentación precoz, suplementos de glutamina, administración de hormonas tróficas como el factor de crecimiento epidérmico y la prostaglandina E2 tenderán a evitar la sepsis postoperatoria.

La aparición de nuevos inmunosupresores como el FK-506 (15, 16, 17, 18, 19, 20) y la Rapamicina (21, 46) cuyo objetivo es no destruir las células linfoides del injerto, sino que se pueda permitir la circulación de éstas en el receptor sin causar la GVHD y a su vez que las células linfoides del receptor colonizen el injerto sin causar su rechazo, objetivo final de todos los transplantes.

Todo ello hace concebir esperanzas y ser optimistas sobre el futuro del transplante de intestino en el ser humano.

1.3.- FISIOPATOLOGIA DEL TRANSPLANTE INTESTINAL.-

Hay diversos factores que intervienen en la fisiopatologia del transplante intestinal como son el shunt portocava, la denervación de intestino, la alteración del drenaje linfático y la absorción de nutrientes, todos los cuales desglosaremos a continuación.

1.3.1.- El shunt portocava.-

En la mayoría de transplantes experimentales de intestino y en algunos humanos se utiliza la vena cava para drenar el flujo venoso del injerto realizando una anastómosis porto-cava (47). Eck (48) describió en 1877 la primera anastómosis porto-cava en perros y Sun Lee (49) realizó en 1958 en Pittsburg la primera operación en ratas con técnicas microquirúrgicas e instrumental diseñado por el mismo. Si bien hay alternativas a la anastómosis porto-cava, como la de la anastómosis portorenal (50), que fisiológicamente se comporta igual siendo técnicamente menos complicada, no cabe duda que aquella es la más utilizada y que las consecuencias de este cortocircuito porto-sistémico son motivo de controversia siendo estudiado por muchos autores las cuales repasaremos a continuación.

1.3.1.1.- Consecuencias metabólicas.-

Lee y Fisher en 1961 (49) ya analizaban las consecuencias metabólicas del shunt portocava, encontrando que los animales operados no ganaban peso en comparación con un grupo control, pero lo recuperaban 3 a 4 meses después de la intervención, así como una elevación de los niveles de amonio sérico y una disminución del peso del hígado. En la necropsia, realizada meses después, no encontraron circulación colateral ni observaron alteraciones en ningún otro órgano permaneciendo las anastómosis permeables 8 meses después de la intervención.

En 1964, Másland (51) atribuía la disminución de peso en los primeros meses a la disminución de ingesta provocada por la toxicidad del shunt y comparaba la ingesta media de ratas operadas con un grupo control encontrando diferencias significativas.

En 1970, Kyu (52) comprobó que la pérdida de peso estaba en relación con la edad del animal. Las ratas jóvenes perdían un 10 a 20% del peso y lo recuperaban rápidamente alcanzando el peso del grupo control a las 14 semanas. Las ratas adultas perdían un 20-30% y no comenzaban a recuperarlo hasta 7 semanas después de la intervención, normalizándose mucho más tarde. Atribuía también la disminución de peso a la pérdida de apetito de los animales.

Fisher, en 1962 (53), atribuyó al shunt portosistémico disminución y atrofia de los hepatocitos, concluyendo que el drenaje portal era esencial para el funcionamiento e integridad estructural del hígado.

Henzel en 1963 (54), describió los cambios que se producían en el hígado: atrofia con disminución de peso e infiltración grasa. El examen histológico mostraba una estructura casi normal, sin casi evidencia de patología. Resultados similares obtuvieron Assal (55) en 1971 y Lauterburg (56) en 1976. En perros Starzl (57) encontraba alteraciones similares en 1975.

Halgrimson y col. (58) en 1966, exponen el concepto de que la sangre portal contiene nutrientes y factores específicos necesarios para el correcto funcionamiento y mantenimiento de la estructura hepática, lo que se denominaría teoría hepatotrófica.

Koltum (59), Shaffer (60) y Schraut (61), no encontraron diferencias significativas en la ganancia de peso postoperatorio de los animales con shunt portocava en relación con el grupo control, eliminando la variación influida por el apetito del animal con el control estricto de la ingesta.

El shunt portocava supone también una alteración en metabolismo de las sales biliares. En 1975 Horak (62) y en 1976 Lauterburg (56) describieron estas alteraciones así como una disminución en la conjugación y excreción de sulfobromophtaleina, reduciendo la capacidad de eliminación de galactosa y disminución del aclaramiento de verde de indocianina. No se han observado cambios en las curvas de glucemia de las ratas operadas, que deberían aumentar tras la administración de glucosa al no pasar esta por el hígado, ya que tras absorberse pasa a la vena cava directamente por el shunt. Según Assal (55) esto es debido a una rápida secreción de insulina, que es mayor que la secretada por el grupo de animales control.

Sankary (63) encontró, en ratas que se les había practicado un shunt portocava, los mismos patrones característicos de aminoácidos plasmáticos asociados con la encefalopatia hepática que describió Fischer en 1975 en el hombre (64) y el aumento en el cociente entre aminoácidos aromáticos y ramificados. Schraut (61) y Koltum (59, 65) en sus estudios no encontraron estas diferencias.

Otros cambios metabólicos son una reducción, temporal, de los triglicéridos en sangre debida probablemente a la anorexia del periodo postoperatorio ya que aumentan al ganar peso. Starzl, en 1975, (57, 66) observó una disminución de la producción, por parte del hígado, de triglicéridos y colesterol paralelamente a la disminución de fosfolípidos séricos y colesterol pero no a la de triglicéridos séricos, realizando la experiencia en perros. Cambios similares pudieran producirse en ratas aunque parece ser que el modelo de transplante de intestino delgado en la rata y como consecuencia del drenaje directo hacia el hígado de la sangre proveniente de duodeno, páncreas y bazo, el aflujo venoso del injerto, tiene poca importancia en el mantenimiento de la apariencia estructural y de la función hepática.

1.3.1.2.- Consecuencias hemodinámicas.-

Las ratas portadoras de shunt presentan un aumento del gasto cardiaco y un aumento del flujo en la arteria hepática, para compensar la pérdida del flujo portal, pero sin lograr los valores preoperatorios (67). También se ha observado un aumento del flujo de los vasos que drenan la región pancreática del donante hacia el hígado, factor importante por el paso de factores hepatotróficos procedentes del páncreas hacia el hígado (68).

1.3.1.3.- Consecuencias neurológicas.-

La patología cerebral tras shunts portosistémicos fue descrita por Degos (69) en 1969 Grange (70), encontró en 1974 cambios electroencefalográficos en los animales operados, probablemente debidos a la encefalopatía hepática, aunque no se relacionaron con los niveles de amonio sérico. Tras una colectomía se normalizaba el electroencefalograma pero el amonio continuaba alto en sangre.

Cavanagh y Kyu (71) en 1969, encontraron cambios histológicos en el cerebro de ratas con shunts porto sistémicos. Se cree que la no metabolización de proteínas, producidas sobre todo en el colon, son los responsables directos de la encefalopatia. En 1974, Dodsworth (72) sugirió una alteración del metabolismo cerebral con disminución de la síntesis de norepinefrina, al encontrar un falso transmisor, la octapamina, en el cerebro de ratas en coma hepático junto con una deplección de norepinefrina.

Todos estos estudios nos harían pensar que como consecuencia del shunt portocava hay algún daño cerebral aunque no se manifieste clínicamente.

1.3.1.4.- Consecuencias hormonales.-

El shunt portocava provoca en el metabolismo hormonal una atrofia testicular con disminución de la espermatogénesis según Dordal (73), y atrofia ovarios e hipófisis de acuerdo con Flynn (74). En hembras adultas se ha encontrado pérdida de pelo, involución del timo y atrofia de los oviductos, con formación de abcesos e hipertrofia de útero. En las ratas impúberes se ha descrito retraso en la aparición de la pubertad, ganancia de peso y atrofia adrenal, también alteraciones del metabolismo de las hormonas ováricas, que mayoritariamente se realiza a nivel de hígado, produciéndose metabolitos carcinogénicos.

Se han hallado hasta 25 veces elevados los niveles de gastrina (75), hormona trófica que estimularía el desarrollo del intestino transplantado y su recuperación. Al contrario, otros trabajos como los de Dembinski y Jhonson (76) dudan de este factor al no observar ningún cambio en la adaptabilidad del intestino tras efectuar una antrectomia. También se ha observado una elevación en los niveles de glucagón entérico después del transplante, aunque no es seguro que desarrollen alguna acción en la recuperación de la función intestinal, (77).

1.3.1.5.- Consecuencias inmunológicas.-

Boecks (78) y Sakai (79) en los años 70 demostraron que los injertos de corazón y riñón en la rata sobrevivían más tiempo si el drenaje venoso se realizaba a la

vena porta que si se hacia a la cava, por lo que se sospechaba la influencia del hígado en el fenómeno del rechazo. En transplante de riñón en perros, Fukuda (80) llegó a los mismos resultados.

En transplante de intestino delgado es más importante este aspecto, y así Kort (7) en transplantes ortotópicos encontró un aumento de la supervivencia si la sangre portal era drenada a la vena porta del receptor en vez de a la cava.

Schraut (61) también llegó a esta conclusión utilizando un modelo de transplante heterotópico, conservando el intestino del receptor. Hay estudios como el de Shaffer (60) en los que no ha encontrado diferencias significativas respecto a la supervivencia colocando el injerto de forma ortotópica.

Estudios como el de Murase (15) muestran una menor supervivencia del intestino cuando este se transplanta aisladamente y con drenaje venoso a la cava, que cuando forma parte de un transplante multivisceral, incluyendo el hígado, con o sin inmunosupresión.

Parece ser que hay una alteración en la respuesta inmunológica, todavía no bien conocida, dependiendo del lugar elegido para el drenaje venoso del injerto, con o sin paso por el hígado.

1.3.2.- Efectos de la denervación del intestino.-.

La denervación del intestino es una de las consecuencias que ocurren al colocar el injerto pudiendo llegar a ser permanente, al igual que en el transplante de otros órganos.

En la mayoría de animales los complejos mioeléctricos de intestino ocurren cíclicamente comenzando la actividad mecánica y eléctrica en duodeno y se propaga por todo el intestino. En la rata no ocurre esto (81), y los citados complejos pueden comenzar a cualquier nivel, propagándose a distancias variables ya que la porción distal de intestino tiene más del doble de complejos que la parte proximal, causa por la esta zona está libre de restos alimenticios habitualmente. La ingesta interrumpe estos patrones de contractilidad iniciándose unas contracciones intermitentes que persisten durante todo el periodo postpandrial y que dependen del tipo y del contenido calórico de los alimentos (82).

La función motriz del intestino transplantado está alterada por la denervación ya que aunque, no desaparecen los complejos mioeléctricos, si que desaparece la migración secuencial de duodeno a íleon, no modificándose tras la ingesta.

Ballinger (83) en 1962 observó en el autotransplante de intestino delgado en perros diarrea, pérdida de peso, esteatorrea y alteración de la motilidad intestinal, provocando una disminución en la absorción de grasas y glucosa; estos efectos eran temporales y desaparecían 4 a 6 meses después de la cirugía. En 1964 (84), este mismo autor provocaba similares efectos con la vagotomía, aunque no tan acentuados. Por contra Hardy (85) en 1970 y Stamford en 1974 (86) no encontraron ningún efecto de la denervación en la absorción de glucosa, aminoácidos y de ácidos grasos de cadena corta.

Teguchi (87) en estudios realizados in vitro, encontró a los 10 días del transplante una contractilidad normal de las capas musculares, circular y longitudinal, de intestino, estudiando la fisiología y farmacología de las terminaciones nerviosas. Como signo patológico encontraron un defecto en la capacidad de inhibición de la contractilidad que se recuperaba antes de los 9 días.

Las consecuencias de la denervación del intestino delgado transplatado son desconocidas a largo plazo, pero son bien toleradas por los animales receptores.

1.3.3.- Efectos de la alteración del drenaje linfático.-

Los canales linfáticos seccionados en el transplante de intestino delgado pueden ser ligados, reconstruidos mediante anastómosis linfo venosas o drenados directamente a la cavidad peritoneal. Esta última opción es la más utilizada en los estudios experimentales.

El sistema linfático contribuye a la absorción de ácidos grasos de cadena larga en forma de quilomicrones. El linfedema secundario a la obstrucción del drenaje compromete la absorción de sustancias como carbohidratos y proteínas e incluso puede afectar la vascularización del propio intestino transplantado por la congestión linfática. Todas estas alteraciones se producen como consecuencia del transplante.

Goott y Lillehei (88), en perros, comprobaron una completa regeneración de los canales linfáticos 4 semanas después del transplante. Iguales resultados, en cerdos, obtuvieron Kocandrle (89), Ballinguer (83) y Rotman (90).

Utilizando segmentos cortos de yeyuno, Hardy (85) encontró una regeneración linfática total 3 semanas después del transplante con la consiguiente capacidad de absorción de ácidos grasos.

Koltum y cols. (59), en estudios realizados en rata, encontró una regeneración linfática con el establecimiento de anastómosis linfo venosas ya a los 3 días del transplante si bien no eran funcionales, y un drenaje linfático aceptable a las 2 semanas.

1.3.4.- Absorción de nutrientes.-

La utilidad de un transplante intestinal viene determinada por su capacidad posterior de recuperar sus funciones principales, la de absorción de agua, de electrolitos y de principios inmediatos, en cantidad suficiente para mantener las necesidades vitales del individuo transplantado.

Funcional y morfológicamente se puede dividir el intestino en las criptas de Lieberkuhn, donde se segregan electrolitos, principalmente el cloro (91), y el borde libre de las vellosidades intestinales donde ocurren la absorción (92).

El periodo de isquemia al que se somete el injerto daña la mucosa intestinal de diferente manera. Así las vellosidades intestinales son más sensibles a la isquemia que el resto de la mucosa y las disacaridasas se encuentran selectivamente en el borde de las vellosidades intestinales. También se encuentran en este lugar la ATP pirofosfohidrolasa, enzima responsable del suministro de energía para la absorción de distintas sustancias, (93).

La denervación del intestino también afecta las distintas capas del mismo (94), provocando una disminución de las funciones del borde de cepillo de las vellosidades y un aumento en la función de las células del fondo de las criptas en el intestino denervado.

Por todas estas alteraciones hay unos cambios en la fisiología intestinal produciendo hipersecreción en un primer momento, lo que explicaría la diarrea y esteatorrea iniciales, y una disminución de la absorción.

Los modelos utilizados para el estudio de la absorción emplean, habitualmente, un asa desfuncionalizada de intestino lo cual no se corresponde a una situación fisiológica normal. El modelo ideal para estudiar la absorción posterior al transplante de intestino en que solo intervengan los factores de isquemia y reperfusión posterior, denervación y alteración de conductos linfáticos sería el de autotransplante ortotópico (95, 96).

La absorción de carbohidratos ha sido utilizada como indicador para controlar la función de absorción intestinal (97). Se ha comprobado que a mayor concentración de glucosa administrada hay mayor absorción (98), y que si se administra por la ostomia junto a ClNa aumenta en 3 o 4 veces la absorción que si se administra sola.

Watson (96) no encontró diferencias en la absorción de glucosa en transplantes isogénicos, alogénicos y grupos control sin denervación de intestino, concluyendo que la absorción de glucosa no depende de la inervación autonómica. Todos los autores están de acuerdo en que el rechazo o la reacción contra huésped son los factores que modifican esta absorción.

Se han realizado estudios con maltosa (99), que necesita disacaridasas, las cuales se encuentran en el borde de cepillo de las vellosidades intestinales, para su desdoblamiento en glucosa y así poder absorberse y pasar a sangre. Todos los trabajos demuestran que el transplante no afecta la absorción de glucosa, salvo los 2 o 3 primeros días en que predomina la secreción. Jeifert y Deltz (100) no encontraron alteraciones incluso, con actividad disminuida de las disacaridasas.

Las peptidasas no son estimuladas para su secreción hasta que el animal no es capaz de ingerir proteínas suficientes.

Respecto a la absorción de agua y electrolitos hay un periodo de 2 días después de la reperfusión de predominio de la secreción sobre la absorción. Esto se debería a la denervación a nivel de las criptas, según Watson (96), en que el intestino es incapaz de absorber agua y electrolitos aunque absorba la glucosa, que se realiza en el fondo de las criptas. Otra causa seria la hipoxia y la isquemia que reduciría la absorción de electrolitos y agua por la producción de radicales libres de oxigeno (101). La isquemia no ocurre solo por la extracción y preservación del intestino sino también por el edema de pared y el bloqueo linfático secundario (102).

Hay pocos estudios sobre la absorción de lípidos, únicamente realizados en estudios de absorción de CsA en emulsión de aceite. Los ácidos grasos de cadena larga absorbidos formando parte de los quilomicrones no son transportados hasta la circulación sanguínea durante las primeras semanas, debido a que no hay un drenaje linfático adecuado y hasta que éste no se recupera no se absorben los lípidos, siendo los últimos en reabsorberse después de un transplante de intestino delgado. Se ha utilizado, para control de la función de absorción de lípidos, la vitamina A (103) debido a que se cree que la secreción de ácidos biliares y enzimas pancreáticos es suficiente para la hidrólisis de los esteres de modo, que el retinol es absorbido y transportado en forma de éster desde los enterocitos hasta la corriente sanguínea, pasando a través de los linfáticos formados después del transplante o directamente a la sangre portal.

Se ha estudiado también la absorción de la CsA (104), que sigue la vía de los linfáticos para su paso a la circulación sanguínea y el fallo en su capacidad de absorción es una prueba sensible de la aparición de rechazo del injerto.

Thompson (105), atribuyó a la denervación y al sobrecrecimiento bacteriano los defectos en la absorción de grasas, de D-xilosa y la imposibilidad de mantener la consistencia de las heces, tras 18 meses del transplante, aunque conservaban un buen estado nutricional con normalidad de la albúmina sérica y del peso.

Todas estas alteraciones deben de ser tenidas en cuenta a la hora de realizar el transplante en clínica humana.

1.4.- INMUNOLOGIA DEL TRANSPLANTE INTESTINAL.-

1.4.1.- Sistema inmunológico intestinal.-

De todos los órganos transplantables, el intestino delgado es el de mayor capacidad inmunoreactiva. El 50% de los linfocitos del organismo humano se encuentran en el intestino y ganglios mesentéricos, y una cuarta parte de la mucosa intestinal está formada por células linfoides (106). Esta distribución de células inmunes cumplen una función de barrera defensiva ante las sustancias y antígenos que se introducen en el tracto digestivo durante la ingesta.

Estas células inmunes se dividen en tejido linfoide agregado y no agregado (107).

El tejido linfoide agregado lo componen:

Placas de Peyer, que contienen tanto linfocitos B como T, capaces de mediar en la reacción contra huésped (108).

Folículos linfoides, más numerosos en íleon distal al igual que las placas de Peyer. Ambos pueden sobresalir en la luz intestinal por encima de las vellosidades, produciendo una discontinuidad en la mucosa que facilita el contacto del contenido de la luz intestinal y las células linfoides (109) y un transporte más eficaz de antígenos hacia los lugares de procesamiento.

Ganglios linfáticos mesentéricos, de estructura similar al resto de ganglios y situados a lo largo de los vasos mesentéricos.

El tejido linfático no agregado compuesto por células inmunocompetentes aisladas y distribuidas por todas las capas intestinales está formado por:

Leucocitos luminales, encontrándose en la luz intestinal multitud de polimorfonucleares, linfocitos y macrófagos que se cree han emigrado desde la mucosa de manera pasiva o mediado por algún mecanismo quimiotáctico o inmune mediado por antígenos (110). Parecen ser una primera barrera de defensa contra los gérmenes intestinales.

Linfocitos intraepiteliales. Hasta un 20% de las células epiteliales son inmunocompetentes y de ellas el 50% son linfocitos, la mayoría de ellos T. Se encuentran en el torrente sanguíneo, necesitando un estímulo antigénico en la luz

intestinal para desarrollarse (111). Se cree que pasan a la lámina propia o incluso a la circulación sanguínea cargados de antígenos para su procesamiento (112).

Linfocitos de la lámina propia. Aparecen después del nacimiento por el estímulo antigénico del intestino. Son de ambos tipos T y B.

Toda esta población linfocitaria intestinal realiza movimientos circulatorios dentro del organismo (113). Hay un patrón de migración desde el intestino a través del conducto torácico hasta la circulación general y de vuelta otra vez al intestino (114). Este patrón migratorio se ha encontrado también en los linfocitos presentes en los epitelios respiratorio y genitourinario lo que implicaría un sistema linfoide común asociado a la mucosa.

Así mismo se han encontrado patrones de migración de células linfoides intestinales a vias respiratorias, genitourinarias y glándula mamaria, que apoyaría la teoría de circulación antígeno específica (115). Se desconoce el mecanismo de regreso a sus lugares de origen.

1.4.2.- Inmunologia del transplante de órganos en la rata.-

En todos los seres vertebrados existe un complejo mayor de histocompatibilidad que rige la aparición de antígenos (Ag) expresados en la superficie de las células heredados de los progenitores. En la rata el complejo mayor de histocompatibilidad se llama RTL (116). Este sistema controla la expresión de Ag. en la superficie de las células, el rechazo de tejidos y la producción de anticuerpos (Ac). Hay descritos 10 haplotipos diferentes de este sistema (117).

Los miembros de una misma raza "inbred" aceptan órganos de sus congéneres sin producirse reacción alguna; son homocigóticas para los genes que rigen el complejo mayor de histocompatibilidad. Hoy día se disponen de muchas razas de rata "inbred". Los hijos de la primera generación del cruce de dos razas "inbred" diferentes serán heterocigóticos para estos genes; conociendo los genes tanto de padres como de los hijos podemos dirigir la respuesta inmunológica utilizando los principios mendelianos.

Padres AA + BB hijos (F1) AB Cuando transplantamos un órgano de un animal de la generación de los padres a un hijo híbrido de la primera generación, este es aceptado no produciéndose reacción de rechazo, ya que el animal receptor no reconoce los Ag del órgano transplantado como ajenos.

Si transplantamos un órgano de un animal híbrido de la primera generación del cruce de dos razas "inbred" a un animal de la generación de los padres el rechazo del injerto es la norma; el receptor es capaz de reconocer los Ag del órgano transplantado como ajenos.

Si el órgano a transplantar es el intestino delgado, una gran cantidad de células inmunocompetentes vienen con el injerto, pudiendo sobrevivir y actuar por su cuenta en el receptor. Si la acción de estas células es la que predomina se produciría el rechazo del huésped por parte del injerto. El que se produzca una reacción de rechazo o de reacción de injerto contra el huésped dependerá del tejido linfoide transplantado que sea viable. Organos como el riñón o el corazón son incapaces de producir esta reacción pero en médula ósea o en intestino delgado es habitual el rechazo del huésped por parte del injerto.

Cuando se realiza el transplante de intestino delgado entre dos razas alogénicas, el rechazo del injerto ocurre siempre (6, 118). Si se utiliza una combinación P ----- F1 la reacción del injerto contra huésped es lo habitual, como comprobaron Monchik y Rusell (6). Si se disminuye el número de células inmunocompetentes del injerto por irradiación del mismo (119), extirpación de los ganglios mesentéricos o transplantando la mitad del intestino (120), la reacción del injerto contra el huésped y el rechazo del injerto por parte del huésped no se producen.

Ambas reacciones pueden ocurrir a la vez y no se conocen los mecanismos inmunológicos de estos fenómenos de rechazo.

1.4.2.1.- Reacción de rechazo,-

El principal problema del transplante intestinal sigue siendo el rechazo del órgano. La rapidez de este fenómeno es proporcional al grado de histocompatibilidad entre el donante y el receptor. Injertos entre dos especies diferentes (xenoinjertos) son

rechazados más rápidamente que entre individuos de la misma especie (aloinjertos), y que son rechazados así mismo antes que entre individuos idénticos (gemelos) de la misma especie.

Los injertos son rechazados, la mayoría de las ocasiones, después de pasado cierto tiempo, 5 a 10 días, durante el cual se suceden una serie de fenómenos inmunológicos que llevan al rechazo del órgano; pero si el receptor ha estado previamente sensibilizado a los Ag. del donante este periodo de tiempo se acorta notablemente. (121).

El rechazo del injerto se inicia con el reconocimiento de los Ag. del órgano transplantado por parte del sistema inmunitario del receptor. Estos Ag., capaces de desarrollar una reacción de rechazo por parte del receptor, se denominan Ag de histocompatibilidad. Muchos Ag están en la superficie de la mayor parte de las células del organismo, siendo distinta su concentración entre los distintos órganos y son codificados por genes que comparten los mismos locus en los cromosomas, denominándose complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) o "human leucocyte antigen" (HLA), por hallarse en mayor concentración en los leucocitos. Otros Ag como los que rigen los grupos sanguíneos ABO y Ag menores presentes en la membrana celular, también son capaces de inducir esta reacción de rechazo, variando la capacidad de producirla así como la intensidad de esta según los diferentes sistemas (121).

Los Ag del CMH o HLA se subdividen, según el locus que ocupan en los cromosomas, en HLA-A, B, C llamados también Ag clase I y HLA-D que componen los Ag clase II. Los de clase I están presentes en la mayoría de células del organismo como linfocitos, plaquetas, órganos parenquimatosos etc., pero no se encuentran en las células maduras de la serie roja. Algunos parénquimas como el renal poseen muy pocos Ag clase I. Los Ag clase II se descubrieron porque existía una respuesta de proliferación inducida por cultivos celulares HLA-A, B, C idénticos, por lo que se intuyó la existencia de un locus separado de los A, B, C capaz de inducir una respuesta inmune.

En individuos con AB0 y HLA-A, B, C y D idénticos es posible la reacción de rechazo, lo que apunta a la existencia de otros Ag todavía por descubrir que son capaces de inducir esta reacción de rechazo.

Los Ag HLA se heredan conforme a las leyes de Mendel. Cada individuo recibe de sus padres un juego de Ag HLA diferentes, heredados de forma codominante de modo que el 25% de la descendencia tendrán el mismo haplotipo (HLA idénticos), el 50% solo compartirán uno de los haplotipos y el otro 25% restante no tendrán ninguno en común. El que sean HLA idénticos no significa que puedan aceptar injertos entre si, ya que los Ag de los grupos sanguíneos AB0 y los Ag menores son codificados por genes situados en distintos cromosomas. A mayor disparidad entre los grupos de Ag, más probabilidad de rechazo y a menor disparidad mayor posibilidad de aceptación y sobre todo requerirá menor dosis de supresión para controlar el rechazo.

La secuencia de hechos que se desarrollan después del transplante de un órgano no está bien conocida, dependiendo de la disparidad antigénica o de la ruta por la que los aloantígenos son reconocidos por el organismo, vía vascular, linfática o por contacto directo, razón por la cual esta reacción puede variar en sus características.

Habitualmente el rechazo agudo es mediado por pequeños linfocitos que se identifican a las pocas horas del transplante, infiltrando las paredes de los pequeños vasos. A los dos o tres días ya hay linfocitos grandes con abundante citoplasma y ya se pueden observar lesiones en el endotelio capilar. Más tarde el infiltrado, que era localizado, se hace difuso y empieza a acumularse gran cantidad de líquido con un gran edema intersticial (121).

Se denomina arco aferente a la primera fase de la respuesta inmunológica ante los transplantes, y comprende los hechos que ocurren para que los aloantígenos sean reconocidos por el organismo receptor. La primera acción es un contacto entre los Ag del órgano transplantado con los macrófagos del receptor, que se denominan células presentadoras de Ag (CPA). Estos Ag son procesados en las CPA y presentados a clones de linfocitos helper, genéticamente programados para responder a ellos. Algunos Ag son capaces de evitar las CPA e interaccionar directamente con los linfocitos helper (121). Los Ag y las CPA se pueden poner en contacto en la vía sanguínea en el caso de injertos vascularizados donde las células linfáticas del receptor pasan al injerto y son sensibilizadas en el propio parénquima del órgano. Si el contacto ocurre por vía linfática, las células del órgano transplantado van hasta los

ganglios del receptor, donde son reconocidas por los macrófagos y los linfocitos del donante, pasando al torrente circulatorio del receptor y estimulando a las CPA.

Se cree que la CPA modifican los Ag para que sean reconocibles por los linfocitos. Ambas células deben de compartir un mismo HLA-D, ya que se necesita que los linfocitos reconozcan a los dos, Ag y CPA, para que exista sensibilización. Las CPA secretan una linfoquina, interleukina 1 o IL-1, que es necesaria para la proliferación de los linfocitos helper. El reconocimiento de los Ag extraños por parte de los linfocitos -T y la secreción de IL-1 provoca su proliferación y diferenciación a varios subtipos de linfocitos. A su vez los linfocitos T helper sensibilizados secretan a su vez varias substancias, las linfokinas, como el factor de crecimiento de células B, capaces de inducir la proliferación de linfocitos B y mediante la secreción del factor de diferenciación estos linfocitos B se desarrollan hasta células plasmáticas productoras de Ac.. También se sensibilizan los linfocitos B mediante la interacción directa entre linfocito T y helper-linfocito B en el contexto de un reconocimiento de Ag tipo II del CMH (121).

Estimuladas por la IL-I, las células T secretan IL-II provocando que otras células T se dividan y se transformen, madurando, a células T citotóxicas antígeno-específicas capaces de destruir las células del injerto, y a su vez de desarrollar nuevas células T específicas procedentes de un solo clon.

Se dice que los Ag clase II del injerto son capaces de estimular principalmente a los linfocitos T-helper, mientras que los de clase I son mejor reconocidos por los linfocitos citotóxicos.

Una vez reconocidos los Ag del injerto como extraños y sensibilizadas las células del sistema inmune del receptor, comienza la segunda fase del rechazo, arco eferente, que terminará con la destrucción del órgano transplantado salvo que se modifique artificialmente esta respuesta.

Gran cantidad de células y moléculas actúan en la destrucción del injerto, algunas de ellas por una acción inmunológica específica y otras de forma totalmente inespecífica.

Los mediadores primarios del rechazo son los linfocitos T citotóxicos, por su actividad citolítica, y los linfocitos T helper por la liberación de linfokinas que llevan a la acumulación de células inflamatorias no específicas que son capaces de activar a los linfocitos T citotóxicos y a las células B. Las principales células efectoras del rechazo

son los linfocitos T sensibilizados, que producen la lisis de las células para los que están sensibilizados mediante un complejo proceso. En una primera fase reconocen los Ag clase I de la célula diana y posteriormente la destruyen. Un mismo linfocito T no es destruido en este proceso y es capaz de lisar varias células portadoras de Ag; contribuyen así mismo a la destrucción celular otras células como linfocitos T no citotóxicos, neutrófilos, células "natural killer", linfocitos B, macrófagos y otras. Todas estas células junto a los Ac anticélulas portadoras de aloantígenos comportan una destrucción del injerto, por mecanismos inmunológicos específicos e inespecíficos, por medio de la respuesta inflamatoria que ocasiona liberación de enzimas con edema y trombosis de los pequeños vasos, alterando la vascularización del tejido.

Se ha intentado relacionar el coeficiente linfocitos T helper / T citotóxicos con la evolución del rechazo, encontrando un aumento de los T citotóxicos en relación con los helper durante la fase aguda del rechazo, si bien también hay estudios en los que se ha encontrado lo contrario, (121, 122, 123).

Otro tipo de reacción de rechazo es el hiperagudo, efectuado por Ac. del receptor preformados contra los Ag. del donante. Esto ocurre cuando ha habido una previa sensibilización del sistema inmune contra el órgano transplantado o como en algunos xenoinjertos, en que existen Ac. naturales de especie. En este rechazo hiperagudo se produce un rápido depósito de Ac. Ig G y de factores de complemento en el órgano transplantado, con la consiguiente liberación de mediadores de la inflamación, que provocan la formación de agregados plaquetarios y de fibrina, todo lo cual altera la vascularización del injerto de manera muy rápida.

Más común es el rechazo crónico, en el que hay una disminución gradual de la función del órgano transplatado durante meses o años con fibrosis, engrosamiento de las membranas basales de los capilares y progresivo estrechamiento de la luz de los vasos que conducen a una insuficiencia del riego arterial y a la pérdida de la función del órgano transplantado.

También se daña el injerto mediante células que poseen receptores para la región Fc de la Ig G en su superficie, las cuales no lisan directamente a las células diana sino que liberan enzimas lisosomales y otros productos dañinos capaces de producir daño celular en presencia de receptores para la Fc de las células T activadas. La célula diana debe poseer una Ig G en su superficie.

El papel de los linfocitos NK no está claro en el rechazo de los injertos. Se sabe que estas células se encuentran en grandes cantidades en el aloinjerto en vias de rechazo, y que tienen actividad contra células tumorales e inmaduras de una manera antígeno inespecífica.

También se ha podido demostrar el daño al injerto mediado por Ac, distintos al rechazo hiperagudo, aunque parece ser que su efecto es inespecífico y por vía de la activación de factores del complemento, coagulación, histamina, factores quimiotácticos y liberación de otras enzimas, que dan lugar a la formación de microtrombosis, agregación plaquetaria, edema y pérdida de la vascularización del injerto. Múltiples mecanismos contribuyen al rechazo de los injertos alogénicos pudiendo operar simultánea o aisladamente y con predominio de unos u otros según las circunstancias.

En diferencia con otros órganos el rechazo de intestino no es fácil de diagnosticar (122). Estudios funcionales como la absorción de maltosa (30), D-xilosa (97) o de polietilen-glicol (124), marcadores serológicos como la N-acetil-hexosaminidasa (125), diferencias de potencial de membrana (126), actividad procoagulante de los leucocitos en sangre periférica (123) y otras pruebas funcionales todavía no han alcanzado un desarrollo y credibilidad suficiente como para confiar en ellas a la hora de diagnosticar el rechazo del órgano, y mucho menos diagnosticar tempranamente el mismo.

Solo los hallazgos histológicos, obtenidos por la biopsia directa del injerto, como en el resto de los órganos transplantados, serán de utilidad a la hora de establecer un diagnóstico temprano. Todo el intestino debería de ser accesible a la toma de biopsias ya que la reacción de rechazo puede ocurrir en distintas zonas (122). Una biopsia a ciegas podría no obtenerse en la zona afectada y dar un diagnóstico erróneo.

Los cambios histológicos que suceden en el intestino han sido bien establecidos en modelos experimentales en la rata (122, 127) mediante la toma consecutiva de biopsias. Los cambios producidos son parecidos a los que ocurren en otros modelos experimentales e incluso en el humano.

A los 5 días del transplante el isoinjerto y el aloinjerto de intestino son histológicamente indistinguibles. Al 6º día comienza un infiltrado de linfocitos, eosinófilos y de células plasmáticas en la lámina propia pero sin alterar la arquitectura

vellocitaria; unos pocos linfocitos se pueden observar en los ganglios mesentéricos y una vasculitis incipiente aparece en los vasos que atraviesan la capa muscular. Posteriormente el infiltrado de mononucleares y polinucleares se hace más notable y difuso, distinguiéndose fácilmente de los linfocitos habituales en la mucosa intestinal, folículos linfoides y placas de Peyer. Esto se conoce como la fase 1 de rechazo.

Los cambios de la fase 1 son solo perceptibles a nivel microscópico en la mucosa. Macroscópicamente el intestino es de aspecto normal y funcionalmente no se puede distinguir con el isoinjerto de intestino (99). Con terapia inmunosupresora adecuada esta fase es reversible.

El infiltrado celular aumenta pasando la lámina propia y llegando a la capa muscular hacia el 9°-10° día, acompañándose con un edema y acortamiento de las vellosidades intestinales. También se produce pérdida de mucosa en tramos esparcidos, con vasculitis de pequeños y grandes vasos con infiltración linfocitaria de las paredes de estos vasos. Todos estos cambios pertenecen a la fase 2 del rechazo donde la mucosa no puede absorber los nutrientes de una forma normal (99). Al final de esta fase la mucosa está parcialmente destruida y la capa muscular completamente infiltrada por linfocitos y neutrófilos. La transición de la fase 1 a la 2 es gradual, sin poder establecer el momento preciso en que se produce el cambio, que suele ser entre el 8° y 10° día. Los cambios histológicos suelen ser irreversibles, aunque se utilice inmunosupresión agresiva, y suele ir seguida de la pérdida del injerto.

Hacia el 12 día hay una completa destrucción de la mucosa del injerto con infiltración celular, predominantemente linfocitos, en todas las capas del intestino con microperforaciones, serositis y peritonitis. Es la fase 3 del rechazo y representa la pérdida completa del injerto.

Estas 3 fases, y con esta cadencia, se producen en el rechazo agudo, pero existe otro tipo de reacción que se da en determinadas circunstancias como en caso de inmunosupresión del receptor, competencia o lucha de los dos sistemas inmunes o cuando el drenaje venoso se realiza hacia la vena porta del huésped. A esta reacción se la denomina rechazo crónico. Pueden encontrarse dentro del mismo órgano injertado zonas con rechazo agudo junto con zonas que padecen rechazo crónico e incluso con zonas completamente normales. Los cambios histológicos que se suceden son exactamente iguales que en el rechazo agudo en sus dos primeras fases, pero el paso de la 2 a la 3 se realiza de manera más paulatina. La fase 1 puede empezar un

poco más tarde que en el rechazo agudo y durar más días. La diferencia más notable entre el rechazo agudo y crónico es que en la fase 2 del rechazo crónico hay una reacción en la que predominan fenómenos de fibrosis y retracción hacia el día 13 después del transplante, con retraimiento general de todo el injerto que comenzando en la capa muscular se extiende hacia toda la pared con engrosamiento de la submucosa y de la muscularis mucosae, llegando a encapsularse todo el injerto y haciendo imposible el separarlo o el individualizar sus asas. La luz intestinal se obstruye, imposibilitando el paso de nutrientes, falleciendo el animal por deshidratación e inanición.

Si el transplante es heterotópico, conservando el animal su propio intestino, este puede sobrevivir indefinidamente encapsulando al injerto que se convierte en una masa fibrosa.

La secuencia del rechazo en fases en vez de en días es debido a que las fases se correlacionan más con la viabilidad del injerto y así se puede dirigir el tratamiento inmunosupresor hacia las primeras fases cuando los cambios histológicos son reversibles todavía.

Desde el punto de vista clínico, en las 2 primeras fases del rechazo, la conducta del animal es normal, tomando agua y alimentos a las 4-6 horas de la intervención y una actuación como los otros animales. Suele haber diarrea durante las primeras 48 horas, pudiendo ser sanguinolenta por exfoliación de parte de la mucosa por las lesiones de isquemia-reperfusión, pero al día 3º las deposiciones son normales; hacia el 5º-6º día comienzan los signos de deshidratación con pérdida de peso y adinamia. El animal sobrevive hasta el día 11 o 12 en el caso de rechazo agudo y varios días más en el caso de rechazo crónico, palpándose en este caso, la masa de asas intestinales engrosadas y enquistadas.

1.4.2.2.- Reacción de injerto contra huésped (GVHD).-

La reacción de injerto contra huésped ocurre cuando las células inmunocompetentes del injerto reaccionan contra un receptor inmunocomprometido. La presencia de tejido linfoide en el intestino provoca, por un lado, el aumento de la inmunogeneicidad del injerto debido a que las células linfoides tienen gran cantidad de Ag. de superficie (128), haciéndolo más fácilmente rechazable, y por otro, la reacción

contra el propio huésped provocando la GVHD. Esta reacción depende del contenido linfocitario del injerto, ya que si extirpamos los ganglios mesentéricos o destruimos las células linfoides mediante radiación o con globulina antilinfocitaria no se produce este fenómeno.

La GVHD predomina en las F1-híbrido receptores en ratas y es producida por la acción del tejido linfoide del injerto, que rechaza al huésped, y por la incapacidad del huésped de reaccionar contra el injerto al reconocerlo como propio (129). Este fenómeno no se produce de forma tan controlada en otros animales como perros y cerdos y si en las ratas. Lillehei (130) y Cohen (131) encontraron que el transplante de todo el intestino provocaba, predominantemente, una reacción injerto contra huésped y Reznick (12) halló como reacción principal el rechazo del órgano.

En clínica humana ambas reacciones pueden ocurrir a la vez, aunque pueden prevalecer una u otra reacción en determinados casos como en la inmunosupresión previa del huésped (132), en la prevalencia de los linfocitos del injerto por sensibilización previa del donante contra el receptor o como resultado de la terapia inmunosupresiva postoperatoria que altera en mayor medida el sistema inmunocompetente del receptor que el del injerto.

Los estudios de reacción de injerto contra huésped han sido realizados, mayoritariamente en la rata ya que es el único animal que puede ser manipulado genéticamente para producir esta reacción sin interferencia con el rechazo.

Aunque también aparece en el rechazo, la diarrea es el primer signo de sospecha que aparece en la reacción de injerto contra huésped. Los primeros signos clínicos en el animal transplantado aparecen a los 9 - 11 días, consistiendo en enrojecimiento e inflamación de la piel que cubre el hocico, orejas y garras con eritema periocular. Posteriormente hay pérdida de gran cantidad de pelo con piel seca y escamosa. Hacia el 11 - 16 día la rata se encuentra inmóvil, fría, arreactiva y emaciada en un estadio terminal; la pérdida de peso es continua desde los primeros días, muriendo hacia el día 14 (133).

La GVHD en el transplante alogénico de intestino delgado se divide en 3 grados según Monchick y Rusell (6), de acuerdo a su severidad:

Grado 1: ligero enrojecimiento de hocico, patas y orejas.

Grado 2: moderado enrojecimiento de las zonas dichas junto a alopecia y diarrea.

Grado 3: severo enrojecimiento, alopecia más intensa y diarrea profusa.

En la autopsia se encuentra un crecimiento de los ganglios linfáticos y del bazo (133), el intestino transplantado tiene un aspecto normal al contrario que el del huésped que aparece dilatado, edematoso y con aspecto necrótico y con peritonitis apreciable. Los órganos más afectados son el intestino, bazo, piel y ganglios linfáticos, si bien se puede afectar todo el organismo.

Microscópicamente, la piel (134) presenta descamación de la epidermis con vacuolización de la capa basal, inflamación de la dermis con disqueratosis y necrosis de queratinocitos e infiltrados celulares de todas las capas incluso del tejido celular subcutáneo.

Hacia el 5º día del postoperatorio se aprecia un aumento de tamaño del bazo y de los ganglios linfáticos, aumentando continuamente de tamaño hasta el fallecimiento del animal, aunque pueden disminuir en los últimos días por la emaciación del animal. Entre el 9º y 12º día aparece en el intestino del huésped un infiltrado de polinucleares en la lámina propia con disminución de la altura y pérdida de las vellosidades. Después el infiltrado se extiende a la mucosa y submucosa con necrosis de parte de las criptas. Hacia el 14 día la enteritis es ya necrotizante y todo el intestino está edematoso e infiltrado por tejido de granulación. El tejido linfático intestinal sufre una deplección de linfocitos desde el 5º día después del transplante con proliferación de histiocitos e inmunoblastos en el zona paracortical de los ganglios linfáticos, que desaparece posteriormente dando paso a linfopenia y desestructuración que hace imposible distinguir el cortex de la zona medular. En el bazo ocurren cambios parecidos con pérdida de folículos y linfocitos que son sustituidos por células reticuloendoteliales, perdiendo el bazo al final del proceso su estructura histológica, desapareciendo su arquitectura que es sustituida por bandas de tejido fibroso con muy pocos elementos celulares. El timo sufre cambios hacia el 6º-7º día, con adelgazamiento de la cortical y atenuación de la médula.

En sangre periférica hay leucopenia y linfopenia. El resto de órganos con tejido inmunológico hígado, piel, intestino, glándulas salivares, etc. sufre un infiltrado por inmunoblastos.

El hígado sufre pérdida de hepatocitos con inclusiones acidófilas en los restantes. Las glándulas salivares pierden parte de sus acinis mucosos. En los pulmones y en el propio injerto no se han descrito cambios patológicos.

Mediante tinciones especiales con Ac. monoclonales (134), se pueden observar cambios inmunopatológicos en todos estos órganos. En 1962, Simonsen (135), intentó medir la intensidad de la reacción correlacionándola con el peso del bazo.

No se han realizado estudios de nutrientes para diagnosticar la reacción de rechazo contra huésped. Es de suponer que la deficiencia de enzimas de los enterocitos producidas por la pérdida de vellosidades estará en relación con la malabsorción de nutrientes y los cambios histológicos (136).

El predominio de las alteraciones de órganos con contenido linfoide en la reacción de injerto contra huésped nos indica que este tipo de tejido es el principal objetivo de este fenómeno, junto con órganos epiteliales como la piel y el intestino.

1.4.3.- Inmunosupresión.-

El mayor obstáculo para el éxito de un transplante de intestino delgado ha sido la ausencia de un adecuado régimen inmunosupresor para controlar el rechazo del órgano.

transplantes experimentales En los primeros se utilizaron los inmunosupresores disponibles como la Azatioprina, derivado de la 6-mercaptopurina, sintetizada por Hitchings y Elion (137), la cual actuaba tempranamente en la fase proliferativa de los linfocitos T y B, inhibiendo la respuesta primaria inmune pero no la secundaria, debiendo administrarse de forma continua para que no cese su efecto durante la fase de rechazo. Fue utilizada por Preston (138) y Ruiz (139) en sus experimentos en perros, junto con prednisona y globulina antilinfocitaria con resultados variables, logrando solo alargar la supervivencia de los aloinjertos durante unos pocos días.

El suero antilinfocitario fue utilizado por Hardy (85), solo o en combinación con azatioprina y esteroides, logrando supervivencias más duraderas pero todavía cortas. La supervivencia más larga alcanzada por unos de sus animales fue de 57 días.

Deutsch (140) administraba únicamente suero antilinfocitario en transplantes de intestino fetal, obteniendo una mayor supervivencia en comparación con el grupo control. Hay que tener en cuenta que el intestino fetal tiene una carga linfocitaria menor. El suero antilinfocitario se suele emplear en combinación con otros inmunosupresores, por lo que su verdadero efecto es difícil de establecer. Quint y Hardy (85, 141) no obtuvieron ningún beneficio utilizándolo como monoterapia. Si que ha tenido éxito en el pretratamiento del donante, con el fin de evitar la reacción de injerto contra huésped (142).

También se han utilizado, prácticamente desde el principio, los corticoides como inmunosupresores a altas dosis o en combinación en los casos de rechazo agudo. Actúan inhibiendo directamente la proliferación de linfocitos T modulando muchas respuestas enzimáticas de los leucocitos (143), influyendo en numerosos procesos fisiológicos y patológicos. Los corticoides junto a la azatioprina pueden ejercer efectos nocivos sobre la mucosa intestinal (144) interfiriendo con el recambio normal de las células epiteliales de la mucosa pudiendo afectar negativamente sobre el órgano transplantado.

La irradiación del injerto o del donante, con el fin de disminuir la carga linfocitaria de éste, se ha utilizado también desde el primer momento para intentar evitar la reacción de injerto contra huésped. Monchik y Rusell (6) la evitaban irradiando totalmente al donante con 700 rads. La irradiación del donante había demostrado que prolongaba la supervivencia en ratas de órganos como el corazón o el riñón (145) reduciéndose la carga linfocitaria del injerto.

En 1985 Lee y Schraut (145) realizaron irradiación "in vitro" solo del injerto, evitando la reacción contra huésped. Pero en un estudio de los mismos autores en 1988 (9) no encontraron una supervivencia mayor entre los injertos de intestino previamente irradiados y los no irradiados, indicando que la irradiación total del intestino puede provocar una deplección del tejido linfoide pero no una completa eliminación de los linfocitos, que son suficientes para desencadenar el rechazo. El grupo de ratas utilizados por ellos estaba dirigido a producir rechazo y no reacción de injerto contra huésped. Atribuían el fallo de la irradiación para evitar el rechazo a que el intestino contiene gran cantidad de células con Ag. clase II radioresistentes, que juegan un importante papel en el rechazo, coincidiendo con los estudios de Grant en el cerdo (146).

En Holanda, Saat (119) llegó a la conclusión de que la irradiación del injerto o del donante previene la reacción de injerto contra huésped pero apenas disminuye la inmunogeneicidad del intestino, por lo que este es rechazado del mismo modo que si no hubiera sido irradiado. Encuentran que el proceso de rechazo se puede, incluso, acelerar (147). Como los efectos de la irradiación, a corto y largo plazo, son muy perjudiciales, este método de inmunosupresión no suele utilizarse más que en estudios experimentales (148).

La ciclosporina A (CsA) fue descubierta en 1970 (149) a partir de dos hongos imperfectos: Toliplocadium inflatum y Cylindrocarpon lucidum. Algunos péptidos obtenidos de los extractos de estos hongos fueron inyectados a ratones para estudiar su poder antifúngico y citostático, y se observó que mostraban un gran poder inmunosupresor sin aparente toxicidad. La CsA tiene acción directa sobre los linfocitos B y T, desconociendo totalmente su mecanismo de acción; actúa inhibiendo la síntesis de IL-2 mRNA sobre los linfocitos con una acción dosis dependiente. Además, dado que la síntesis y secreción de gamma-interferón, MIF (factor de inhibición de la migración de los macrófagos) e IL-3 están disminuidas por efecto de

la ciclosporina, se puede presumir que la CsA inhiba la transcripción de un número limitado de genes inducibles por los linfocitos T y que este efecto explicaría todos o la mayor parte de sus otra acciones. En definitiva inhibe la proliferación y diferenciación de algunos clones de células T cititóxicas, que de otro modo serían estimuladas por las células T helper, al mismo tiempo que disminuye el estímulo de la IL-2 sobre la propia subpoblación T helper.

La CsA, en cuanto estuvo disponible, fue incorporada a la experimentación y adecuadamente combinada en protocolos de inmunosupresión, con corticoides. Muestra una considerable ventaja al inhibir el paso anterior de la estimulación de la subpoblación T helper a a partir de la célula presentadora, por tener un efecto inhibitorio sobre la IL-1.

El primero en utilizar la CsA en transplante intestinal, por vía i.m. en perros, como terapia inmunosupresora única fue Reznick (12), logrando retrasar la aparición de rechazo de aloinjertos.

Graddock (4) demostró que la vía de elección para la administración de CsA es la parenteral y que la vía oral es insuficiente, principalmente en los primeros días posttransplante, debido a un defecto en la absorción de las grasas en el intestino transplantado, conclusiones confirmadas en otros trabajos como el de Mackenzie en 1983 (150).

Ricour (13) utilizó la CsA, por primera vez en un modelo de transplante intestinal en cerdos, obteniendo una prolongación de la vida del injerto con mejores resultados si utilizaba la vía parenteral. No obstante la utilización de CsA, en régimen de monoterapia, en grandes animales, no obtenía buenos resultados a largo plazo ya que aparecían lesiones en intestino, recaídas si se interrumpía la administración del fármaco y rechazo crónico del órgano. Por todo esto Dilliz-Pérez (151) estudió la administración de CsA unida a esteroides en sus transplantes en perros pero no logró prolongar la supervivencia del injerto con la prednisona añadida a la terapia inmunosupresora. Rajú (152) confirmó estos resultados.

Aeder (153), también en perros, utilizó la CsA junto con azatioprina y suero antilinfocitario, encontrando que los perros que recibían esta triple terapia sobrevivían más tiempo comparados con otros grupos. Pero aún con todo, solo lograba una supervivencia de 30 días en el mejor de los casos, acabando con un rechazo incontrolable.

Estos malos resultados en grandes animales (154), incluso utilizando triple terapia combinada, CsA, AZA, Pred., contrastan con los estudios realizados en rata en los que la CsA ha demostrado su eficacia en la prevención del rechazo (155), prolongando la vida del injerto de forma casi indefinida con su administración continua sin apenas cambios histológicos, no solo previniendo el rechazo sino atenuando también la reacción de injerto contra huésped (95). Periodos cortos de tratamiento prolongan la vida del injerto (156) y a dosis bajas de 5 mg/kg/día es capaz de funcionar normalmente (157), permaneciendo los injertos histológicamente normales y manteniendo su capacidad de absorción suficiente para llevar un curso normal de nutrición y de crecimiento.

La esplenectomia del huésped ha sido utilizada como método inmunosupresor asociado con resultados variables. Fabre (158) extirpaba el bazo del huésped previamente al transplante de un riñón, prolongando la vida de este sin utilizar ninguna otra terapia inmunosupresora. En transplante de intestino la esplenectomía aislada apenas ha logrado aumentar la supervivencia del injerto durante unos pocos días, pero cambia el patrón de rechazo de agudo a crónico. Al reducir la esplenectomia la capacidad inmune del huésped puede provocar una reacción de injerto contra huésped. Bitter (159) lograba producir esta reacción en las ratas al transplantar el bazo a un animal en estado de inmunodepresión, si bien no se ha comunicado la aparición de reacción de injerto contra huésped en ratas esplenectomizadas que han recibido un alotransplante de intestino. Por tanto esta terapia inmunosupresora tiene un efecto menor en el proceso de rechazo del intestino.

Yamaguchi (160), mediante la inyección de células esplénicas del donante, tratadas con mitomicina-C, antes del transplante obtuvo una mayor supervivencia del aloinjerto de intestino al manipular el sistema inmune del huésped. Estas experiencias no han podido ser ratificadas por otros autores.

Para intentar suprimir la reacción de injerto contra huésped o provocar un estado de tolerancia se ha utilizado la administración de antisueros antidonante al animal transplantado o Ag. del donante administrados previamente al huésped. Stuart (161) logró prolongar la vida de aloinjertos de riñón por este método, utilizando inmunización pasiva, Ac., y activa, Ag.. Telford (162) no logró aumentar la

supervivencia de injertos de intestino utilizando inyecciones de antisuero en el receptor.

Se han utilizado, también, transfusiones de sangre del huésped al donante con el fin de evitar el rechazo agudo en modelos alogénicos. El efecto sensibilizador y a la vez inmunosupresor de las transfusiones han obtenido resultados dispares. Así Martinelli (163) solo encontró que con las transfusiones podía reducir la dosis de CsA necesaria para mantener el injerto y Saat (147) comprobó que el efecto de las transfusiones era un paradójico aumento de la reacción de injerto contra huésped.

Se ha eliminado la mayor cantidad posible de tejido linfático mediante linfadenectomía quirúrgica del injerto, sin efecto en la aparición de rechazo, aunque puede evitar la reacción de injerto contra huésped en la combinación de ratas semialogénicas.

Se ha utilizado experimentalmente la perfusión de sustancias citotóxicas en el injerto "ex-vivo", con el fin de destruir los leucocitos circulantes unido o no a radiación del injerto, así como la preservación del injerto en soluciones conservantes durante varios días antes del transplante con el mismo fin, y la perfusión de Ac. monoclonales a través de este, dirigidos selectivamente contra las células linfoides.

En la clínica humana se han desarrollado formas de inmunosupresión agresiva combinando varios fármacos. Actualmente la terapia más utilizada es la combinación CsA-Azatioprina-Prednisona, utilizando los Ac. monoclonales OKT3 en episodios de rechazo agudo.

La introducción en 1989 de nuevos inmunosupresores como el FK-506 pueden favorecer la tolerancia del injerto siendo uno de los fármacos más útiles en el control del rechazo en el transplante de intestino en el humano. El FK-506 o Tacrolimus es un inmunosupresor resultado de la fermentación de un microorganismo, el streptomyces tsukubaensis, que actúa sobre las células T-auxiliares, inhibiendo específicamente la producción de interleukina 2 (164).

La rapamicina (19, 165), FK-506/Tacrolimus (16, 17, 18, 19, 20, 164) y el RS-61443 (166) han demostrado ser los más potentes inmunosupresores de que disponemos, aunque su uso en el transplante intestinal no está tan experimentado como en otros órganos (165, 166).

1.5.- CARACTERISTICAS HISTOLOGICAS DEL INTESTINO DELGADO.-

El intestino delgado es la porción de tubo digestivo situada entre el estómago y el colon donde se desarrollan los procesos finales de la digestión de los alimentos y de la absorción de los productos de la digestión (167). Comienza en el orificio pilórico, donde continúa con el estómago, y acaba en la unión ileocecal donde prosigue el intestino grueso. En el ser humano mide de 6 a 7 m. (167, 168) presentando muchas flexuosidades dentro de la cavidad abdominal y dividiéndose en 3 porciones: El duodeno, de unos 20 cm. de longitud, relativamente fijo a la pared abdominal posterior ya que no posee mesenterio en la mayor parte de su longitud, es por tanto retroperitoneal. El resto del intestino se divide en yeyuno, 2/5 de longitud e ileon, los 3/5 restantes. El yeyuno y el ileon están suspendidos de la pared abdominal posterior por el mesenterio, y en situación intraperitoneal, aunque la parte final del ileon vuelve a estar fija a la pared abdominal posterior.

Las funciones del intestino delgado son transportar el material alimenticio (quimo) del estómago al intestino grueso, completar la digestión por la secreción de enzimas por su pared, y secretar algunas hormonas (167). Para desempeñar estas funciones, principalmente la absorción y secreción digestiva, el intestino delgado presenta ciertas especializaciones que aumentan la superficie de submucosa.

-- Especializaciones superficiales de la mucosa --

Estas especializaciones aumentan la superficie e incluyen pliegues circulares, vellosidades que cubren la superficie de éstas, criptas o glándulas intestinales que se originan por un proceso de invaginación de epitelio superficial, y microvellosidades, que son prolongaciones digitiformes de la superficie apical de las células intestinales (168, 169).

Pliegues circulares (válvulas de Kerckring).- Son pliegues circulares o espirales permanentes que abarcan todo el espesor de la mucosa, con el núcleo de submucosa (167). Cada uno puede extenderse 2/3 o más de la circunferencia del intestino, pero rara vez completan un círculo alrededor de la luz intestinal. Algunos se ramifican, comienzan a unos 3 cm. del píloro, alcanzan su máximo desarrollo en la porción terminal del duodeno y proximal de yeyuno, disminuyendo después para

desaparecer en la mitad distal del íleon. Estos pliegues circulares permanentes aumentan unas tres veces la superficie de la mucosa.

Vellosidades y criptas.- Las vellosidades son pequeñas prolongaciones digitiformes o en forma de hoja, de la membrana mucosa, de 0,5 a 1,5 mm. de longitud y que solo se encuentran en el intestino delgado. Cada una está cubierta de epitelio y tiene un núcleo de lámina propia celular, muchas de cuyas células pertenecen al sistema inmunitario (168). En el núcleo hay una arteriola y una vénula con una red capilar y un vaso linfático o quilífero central. La red capilar es más densa que la que hay alrededor de las criptas, situadas a más profundidad de la mucosa, y los capilares de las vellosidades son fenestrados y permeables a las macromoléculas (168). Las vellosidades varían en forma y altura en las distintas regiones del intestino delgado, así en duodeno son estructuras anchas en forma de espátula. transformándose en digitiformes en íleon. Por contracción de las células musculares lisas que se encuentran en el núcleo, las vellosidades pueden contraerse y acortarse, con lo que ayudan al drenaje linfático. Por lo general, las vellosidades se acortan con la distensión y el estado de contracción de las fibras musculares lisas del intestino. Estas prolongaciones por evaginación aumentan la superficie de la mucosa de 5 a 10 veces en el ser humano y representan una población total de unos cuatro millones, 10 a 40 por mm². Su número varia con el grado de absorción, hasta 40 por mm² en duodeno. Entre las vellosidades están las pequeñas aberturas de las glándulas tubulares simples llamadas criptas.

Las criptas o glándulas intestinales (de Lieberkün) son estructuras tubulares que se abren entre las bases de las vellosidades. Tienen de 0,3 a 0,5 mm. de profundidad y se extienden hasta la muscularis mucosae (169). El epitelio que reviste las criptas se continua con el que cubre las vellosidades. Los espacios entre las criptas están llenos de tejido conectivo y no están tan juntas como las glándulas gástricas. En el intestino grueso también hay criptas pero no hay vellosidades. Al microscopio las vellosidades aparecen como contornos circulares u ovales con un núcleo de tejido conectivo (lámina propia) cubierto por epitelio. Una cripta aparece, en corte transversal, como una luz central revestida de epitelio, todo ello incluido en el tejido conectivo de la lámina propia y representa un aumento mayor de la superficie de la mucosa. Las funciones generadora y secretora de la cripta se ven reflejadas por la

naturaleza de sus tipos celulares, que incluyen algunas células con función de absorción, células indiferenciadas, de Paneth, mucosas y enteroendocrinas.

Microvellosidades.- Para un mayor aumento de la superficie, las células cilíndricas con funciones de absorción que cubren las vellosidades y revisten las criptas tienen un borde estriado o en cepillo formado por muchas prolongaciones microvellosas (167, 168, 169). La célula que realiza la absorción tiene unas 3.000 microvellosidades. Cada microvellosidad está cubierta por una extensión de la membrana plasmática, cuya lámina externa guarda relación con una especie de fieltro de filamentos finos que le dan un aspecto borroso. Esta cubierta filamentosa que ocupa los espacios entre las microvellosidades y que cubre sus puntas, forma una capa superficial continua que contiene una glucoproteina y es resistente a los proteolíticos y mucolíticos. En los núcleos de las microvellosidades hay filamentos delgados de orientación longitudinal y que en las bases se continúan con los filamentos del velo terminal.

Al material alimenticio en la luz del intestino delgado se agregan las secreciones de muchas glándulas. Los tres tipos principales son: glándulas intestinales, ya comentadas y que se encuentran en todo el intestino, delgado y grueso; glándulas submucosas que se localizan en duodeno, son de tipo tubular compuesto y se denominan glándulas duodenales (de Brunner); son más extensas en la primera porción de duodeno cerca del píloro. El último tipo de glándulas son las situadas fuera del tubo digestivo, pero que envían sus secreciones hacia la luz de éste por un sistema de conductos; son el hígado y el páncreas, que liberan sus secreciones exócrinas hacia el duodeno (169).

-- Epitelio --

El epitelio de la mucosa intestinal es del tipo cilíndrico simple. Difiere del epitelio superficial del estómago en que hay más de un tipo celular, existiendo células cilíndricas con borde estriado, células de Paneth, células caliciformes, células enteroendocrinas y otras (168, 169).

Células cilíndricas (para absorción). Estas células cilíndricas, altas, descansan sobre una lámina basal, sus núcleos son ovoides y se dirigen hacia la base. Sus abundantes mitocondrias son alargadas y están orientadas en sentido longitudinal, sobre todo en la base de la célula (168). Hay algunos ribosomas libres dispersos en todo el citoplasma, en tanto que el retículo endoplásmico forma una red continua de

conductillos y sáculos fenestrados en toda la célula; los conductillos se encuentran principalmente abajo del núcleo y los sáculos arriba del mismo. El retículo es sobre todo granuloso, pero en el vértice es agranuloso, y hay continuidad entre los dos tipos. El aparato de Golgi está bien desarrollado y se halla en posición supranuclear. También hay lisosomas principalmente en las células más viejas, cerca de la punta de las vellosidades. Cada célula tiene un borde estriado o en cepillo formado por microvellosidades, paralelas, agrupadas muy juntas. Estas células cilíndricas absorben azucares y aminoácidos de la luz intestinal, pasando a través de las células a los capilares sanguíneos de la lámina propia subyacente. También absorben lípidos siendo más eficaces las células vellosas especializadas en el yeyuno. Las células cilíndricas sólo están maduras cuando alcanzan el vértice de una vellosidad después de haberse formado en las criptas y migrar hacia arriba dentro de ellas y a lo largo de las vellosidades hasta la punta, de donde terminan desprendiéndose. Las células inmaduras tienen una menor actividad enzimática y una menor capacidad de absorción ya que las microvellosidades son más cortas e irregulares (169).

Células indiferenciadas (de origen). Se encuentran en la base de las criptas intestinales y son la fuente de origen de las demás células de las criptas y las vellosidades. Son cilíndricas, pero algo irregulares y presentan características de células inmaduras (pocas mitocondrias, retículo endoplásmico mal desarrollado y un pequeño aparato de Golgi, pero muchos ribosomas libres y polisomas). Estas células sufren mitosis constantes para conservar su población y para formar células que se diferencian en cilíndricas, caliciformes, de Paneth y enteroendocrinas (168, 169).

Células de Paneth. Solo se encuentran en la base de las criptas del intestino delgado, y tienen forma piramidal con base ancha y vértice estrecho. Presentan todas las características de las células secretoras de proteína, con retículo endoplásmico basal, un gran complejo de Golgi supranuclear y gotitas apicales de secreción que son acidófilas y que se liberan a baja velocidad. Sin embargo, la secreción se acelera después de los alimentos. Su función puede ser la de regular la flora microbiana del intestino, ya que producen lisozima que digiere la pared de algunas bacterias. En enfermedades inflamatorias, estas células pueden aparecer en otras regiones del tubo digestivo (168).

Células mucosas (caliciformes).- Estas células secretorias de moco están dispersas entre las células cilíndricas, y su número aumenta del duodeno a la

porción terminal del íleon (168). El moco excretado es una glucoproteina ácida y forma una película protectora sobre el glucocáliz de las microvellosidades de las células cilíndricas. También emigran de la cripta a la vellosidad.

Células enteroendocrinas.- Se encuentran en las criptas y en las vellosidades y secretan péptidos reguladores activos que participan en la secreción gástrica, la motilidad intestinal, la secreción pancreática y la contracción de la vesícula biliar (168).

Otros tipos de células epiteliales.- Con menor frecuencia se encuentran células caveoladas en criptas y vellosidades intestinales, células migratorias sobre todo linfocitos y en menor medida otros leucocitos. Por último en el epitelio que cubre las placas de Peyer se halla la célula M que tiene una superficie apical con micropliegues y su superficie basal está en íntima relación con los linfocitos que se encuentran en el epitelio. Esta célula transporta macrocélulas de la luz a estos leucocitos en los que se pueden emprender las respuestas a antígenos extraños (168, 169).

-- Lámina propia --

Se extiende entre las glándulas intestinales y en los núcleos de las vellosidades. Su naturaleza es muy distintiva e incluye una red de fibras reticulares y muchas características de tejido linfático laxo y quizás se describa mejor como tejido conectivo areolar laxo con tendencias linfáticas (169). En la malla de fibras reticulares hay células reticulares primitivas con núcleos grandes, ovales y de coloración pálida, así como linfocitos, macrófagos y células plasmáticas; en particular se pueden ver leucocitos eosinófilos que han emigrado de los vasos sanguíneos. Hay células musculares aisladas de orientación longitudinal en los centros de las vellosidades, por lo general en íntima relación con los capilares linfáticos, que empiezan en los extremos ciegos de las vellosidades y contienen la grasa absorbida después de una comida, por lo que aparecen blancos en el tejido fresco o vivo, y se denominan vasos quilíferos. También hay muchos folículos solitarios o nódulos aislados, más abundantes en la parte distal del intestino que si son grandes pueden ocupar todo el espesor de la mucosa y sobresalir en la superficie. No hay vellosidades y puede no haber criptas en la superficie de los folículos grandes, que entonces solo están separados de la luz por un epitelio cilíndrico simple (168). En muchas regiones, pero sobre todo en el íleon, los folículos pueden ser tan abundantes y estar tan juntos que forman grandes masas

de tejido linfático observables a simple vista. Siempre se sitúan en el borde mesentérico, y son las placas de Peyer o nódulos agregados.

La lámina propia es importante, inmunológicamente, por contener células linfáticas y macrófagos que constituyen una barrera entre el cuerpo y los antígenos, los microorganismos y otras sustancias extrañas que siempre se encuentran en la luz intestinal. Este tejido linfático con relación al intestino contiene linfocitos T y B, aunque los primeros son más abundantes. Muchas de estas células no residen de manera permanente en la mucosa, sino que circulan. Las células B maduran y proliferan en los nódulos linfáticos y las placas de Peyer, y muchas se transforman en células plasmáticas productoras de anticuerpos, sobre todo Ig A.

Las capas muscularis mucosae, submucosa, muscular y serosa no merecen una descripción por separado, aunque hay que hacer notar que la submucosa suele estar infiltrada con leucocitos en la región de las placas de Peyer (169).

-- Glándulas duodenales (de Brunner) --

Estas glándulas submucosas del duodeno están formadas por células cúbicas altas con núcleos oscuros, aplanados y basales y citoplasma claro vacuolado. Las porciones glandulares se continúan con conductos revestidos por células cúbicas bajas, que penetran la muscularis mucosae para desembocar en las células intestinales. Con frecuencia la muscularis mucosae no forma una capa completa sobre las glándulas y hay bandas de músculo liso que se extiende en el tejido conectivo que hay entre las unidades glandulares. Estas glándulas de Brunner se extienden, a veces, hasta la porción superior de yeyuno y, con más frecuencia se pueden encontrar en la región pilórica del estómago; secretan un moco alcalino que protege de la erosión a la mucosa duodenal por la secreción ácida del estómago y se forma una sal neutra en intestino al formar cloruro de sodio y ácido carbónico la unión del ácido clorhídrico con el bicarbonato del moco de estas glándulas. De manera similar las secreciones pancreáticas neutralizan la acidez del quimo proveniente del estómago. Se ha demostrado, por inmunofluorescencia, que las células de las glándulas de Brunner contienen urogastrona, péptido que inhibe la secreción del ácido clorhídrico en el estómago y que también la proliferación del epitelio. Esto último puede servir para estimular la renovación rápida de las células epiteliales dentro de las criptas intestinales (168, 169).

En resumen, (169), las capas del intestino delgado, de dentro a fuera, son: mucosa, submucosa, muscular externa y serosa. En la muscular externa se pueden identificar las capas tanto circulares como longitudinales. En la mucosa se encuentran las vellosidades y las glándulas intestinales, la muscularis mucosae separa la mucosa de la submucosa donde se encuentran las glándulas de Brunner. La lámina propia constituye el núcleo de las vellosidades intestinales.

Las alteraciones morfológicas intestinales que encontramos habitualmente se producen a nivel del epitelio de las vellosidades y criptas con desprendimiento y pérdida, en ocasiones, del mismo. También podemos encontrar edema en la lámina propia, submucosa y muscular y dilatación, más o menos evidente, a nivel vascular (170).

Roberta Sonnino y su grupo (171) propusieron en 1992 un sistema de clasificación para valorar los cambios histológicos en el transplante intestinal dado que la valoración histológica del intestino transplantado es la mejor forma de monitorizar su evolución en la fase posterior al transplante y de poder prever posibles complicaciones de rechazo.



Los criterios aplicados por Sonnino y cols (171), para valorar los cambios histológicos en el transplante intestinal son:

VELLOSIDADES

Aspecto	Presente o ausente			
	Normal			
	Anormal: largo			
	corto			
	estrecho			
	ancho			
Epitelio	Normal			
	Anormal: pérdida parcial de células			
	eliminación completa			
	edema			
Tejido conectivo	Normal			
	Anormal: edema			
	éstasis intravascular			
	infiltración extravascular celular			

CRIPTAS

Presentes o ausentes

Normal:

Anormal: degeneración celular

desorganización

Regeneración: presente o ausente.

LAMINA PROPIA

Presente o ausente

Normal

Anormal: edema

infiltración de polimorfonucleares.

estasis intravascular

hemorragia

MUSCULARIS MUCOSAE

Presente o ausente

Normal

Anormal: éstasis intravascular

hemorragia

BACTERIAS

Presente o ausente

1.6.- PRESERVACION DEL INTESTINO.-

En todo transplante de órganos existe, inevitablemente, un periodo más o menos largo de isquemia y de hipoxia que daña, a veces irreversiblemante, el órgano a implantar. Gran parte del éxito del transplante depende de la capacidad de reanudar el flujo sanguíneo en el órgano implantado después de este tiempo de isquemia y de hipoxia. El daño al órgano puede ser producido, a parte de la hipoxia, por la incapacidad para reanudar la microcirculación sanguínea una vez reimplantado el mismo.

El objetivo de la preservación del órgano es el mantenimiento de la integridad morfológica y de la función del injerto durante el tiempo entre la extracción y la implantación, en el cual se ha de realizar el traslado del mismo, las pruebas de laboratorio necesarias y la preparación del receptor. Idealmente este tiempo debería ser de 24 a 48 horas para permitir realizar los transplantes de una manera semielectiva. En muchos órganos se ha conseguido este tiempo de preservación (21a, 172, 173, 174, 175, 176, 177). En la conservación del intestino, se continua investigando como es el caso de este trabajo.

Todos los métodos efectivos de preservación cuentan con una disminución de la temperatura como el principal elemento protector del órgano a transplantar (172). El desarrollo de las distintas soluciones de preservación, y los distintos sistemas, se han llevado a cabo siempre en órganos distintos al intestino delgado: riñón, corazón, hígado, pulmón y páncreas (21a, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179).

Dos de las soluciones de preservación más importantes se desarrollaron en 1969 por parte de Collins (178) para conservación del riñón, y en 1986 Belzer y su grupo desarrollaron la solución UW (Universidad de Wisconsin) o de Belzer para preservación de hígado (173).

La mucosa es la capa del intestino más sensible a la isquemia pero a su vez posee un gran poder de regeneración. Los primeros estudios de preservación fueron llevados a cabo por Lillehei en 1959 (3). Mantenía el intestino extraído a temperatura ambiente durante dos horas volviéndolo a reimplantar con éxito. Colocado el intestino en un recipiente con suero salino a 5°C mantenía su estructura 4 o 5 horas antes de ser reimplantado con éxito, pero ya aparecía edema tras la revascularización. Se han

descrito periodos de isquemia caliente de más de 7 horas en segmentos de intestino en perro con normal recuperación posterior (133), pero a largo plazo se han demostrado fibrosis y estenosis de los segmentos que han permanecido isquémicos más de 4 horas (134).

Manax (180) perfundió el injerto con dextrano de bajo peso molecular manteniéndolo en una cámara hiperbárica a 2°C logrando de 24 a 48 horas de preservación.

Eyal (181) perfundía, en segmentos de íleon de 25 cm. de longitud, dextrano junto a heparina y bicarbonato sódico obteniendo hasta 48 horas de preservación. Estos resultados mejoraban si se añadía al líquido de perfusión clorpromacina, manteniendo el intestino en cámara hiperbárica. Solo se tenia en cuenta la integridad histológica postrevascularización y no la restauración de la función puesto que las asas intestinales eran anastomosadas a los vasos del cuello y solo empleaban 25 cm. de íleon, no pudiendo aventurar los mismos resultados en todo el intestino.

Iijima (182) preservaba el intestino en condiciones normotérmicas utilizando una perfusión de Ringer lactato heparinizado.

Austen y cols. (183) compararon la supervivencia de segmentos de intestino en perros perfundidos "in vitro" con sangre oxigenada con diferentes sistemas, concluyendo que el flujo no pulsátil producía un deterioro de las funciones metabólicas del asa a las 6 horas y el flujo pulsátil no producía estos cambios incluso tras 18 horas de preservación manteniendo la presión de perfusión entre 140 y 160 mm de Hg. Las propiedades fisiológicas del flujo pulsátil parece que se deben a la protección de los capilares y de la microcirculación, ya que si se utiliza un flujo continuo estos sufren lesiones importantes.

Alican (27) utilizó como perfusión del intestino suero homólogo a 9°C no superando las 2 horas de preservación en condiciones del intestino y demostrando que esta solución era inadecuada para la conservación del órgano.

Guttman (184) realizó estudios con la criopreservación del intestino, congelándolo a bajas temperaturas tras perfusión del órgano con glicerol para evitar el daño celular. Logró supervivencias del injerto tras varias semanas de preservación y aunque el intestino sufría cambios histológicos importantes, era capaz de regenerarse y sobrevivir.

Windmueller (185), en 1970, en estudios sobre la preservación del injerto llegó a la conclusión que si el flujo de perfusión del injerto no era pulsátil necesitaba de la adición de norepinefrina y glucocorticoides para mantener la viabilidad del intestino una vez restablecida la ciculación normal.

Toledo-Pereyra (186, 187, 188, 189) llegó a la conclusión de que la técnica de perfusión continua del injerto es superior al simple enfriamiento y que la adición de alopurinol, así como clorpromacina y metilprednisolona al líquido de perfusión prolonga el tiempo de preservación. Se cree que la clorpromacina estabiliza la membrana celular y que el alopurinol previene la pérdida de precursores de la síntesis de nucleótidos. También observó que la limpieza de la luz intestinal evacuando el contenido fecal, así como el uso de antibióticos en la solución de limpieza, prolongaban el tiempo de preservación ya que así se eliminan proteasas pancreáticas, sales biliares, bacterias, endotoxinas, etc., que, se cree, juegan un papel importante en el daño que sufre la mucosa tanto en el periodo de isquemia como en el de reperfusión.

Van Oosterhout (190), realizó estudios de preservación en la rata Wistar. Desechó el enfriamiento superficial del órgano y la perfusión con suero salino a 4°C ya que éste, similar en composición al del líquido extraceluar, causaba edema intersticial e hinchazón celular cuando era perfundido a través de los vasos arteriales, con la consiguiente disminución del flujo microcirculatorio, especialmente después de la revascularización del injerto. También indicaba que la presión de perfusión no debe ser superior a 35 mm de Hg, ya que presiones superiores ocasionan daño a la microcirculación capilar con pérdida del injerto tras la revascularización. Encontró que perfundiendo una solución de Ringer Lactato a una temperatura de 4°C y a 35 mm Hg de presión mantenía viable el intestino durante, al menos, 40 minutos.

Schraut (191), utilizó solución de Collins a 4°C con heparina para irrigar la luz vascular e irrigando, a su vez, la luz intestinal con suero salino más neomicina al 0,05% logrando reperfusiones tras 6 horas de preservación. Otra conclusión era que la viabilidad del intestino implantado tarda en hacerse evidente al menos 24 horas, por lo que las biopsias tempranas de este no son indicativas del curso posterior del intestino en los próximos días.

En 1988, Raju (192) utilizó, en perros, perfusión continua con Ringer lactato a 4°C con heparina e irrigación intraluminal con antibióticos obteniendo preservaciones de hasta 24 horas.

Hernández (170), realizó estudios de preservación utilizando solución de Collins en combinación con sustancias vasodilatadoras y vasoconstrictoras no encontrando diferencias en cuanto al tiempo de preservación usando unas u otras.

En clínica humana, (42, 43), se utilizan diversos medios de preservación como solución de Collins heparinizada, Ringer lactato, suero salino con manitol para aumentar su osmolaridad o la solución de la Universidad de Wisconsin o de Belzer, no mostrándose ninguno superior a los demás, aunque los tiempos de preservación son más cortos que el resto de órganos ya que la toma del injerto del donante y la reimplantación posterior en el receptor suelen realizarse, habitualmente, en el mismo hospital.

Medios de preservación en el transplante de intestino delgado. Estudio experimental en la rata						
						-

JUSTIFICACION DEL TEMA

JUSTIFICACION DEL TEMA

El síndrome de intestino corto por resección masiva de intestino delgado, habitualmente provocado por un cuadro quirúrgico urgente debido a un accidente vascular, vólvulo o por enfermedad difusa del intestino como la poliposis, supone una entidad incapacitante sin cura (196).

Los pacientes afectos de este síndrome, con frecuencia, requieren ser alimentados de forma permanente por vía parenteral. A pesar de la evolución de la nutrición parenteral y de que, en ocasiones, se puede realizar en el domicilio del paciente bajo supervisión de Centros especializados, todavía presenta serios problemas como son:

- Complicaciones metabólicas.
- Las relacionadas con la presencia y el manejo del catéter, flebitis, infecciones, etc.
- Los problemas derivados para algunos de estos pacientes como el saberse sometidos y dependientes de este tratamiento para sobrevivir, el uso que deben de realizar de la lista de los elementos nutrientes.
- El elevado coste económico, estimado en unos 75.000-100.000 \$ por año y paciente en USA y 25.000£ en el Reino Unido (197, 16).

Como soluciones a este problema se han realizado diferentes técnicas quirúrgicas como la colocación de válvulas, duplicaciones entéricas, inversiones, etc. (198). Todas ellas con la finalidad de retrasar el tránsito intestinal y aumentar el tiempo de absorción del contenido intestinal.

Un tratamiento alternativo para el síndrome de intestino corto es el transplante de intestino delgado, pero una serie de problemas como los técnicos del propio transplante, de conservación e inmunológicos, que junto a un establecimiento

de prioridades al no ser un órgano de riesgo vital como el corazón, hígado o pulmón, han hecho que no se haya desarrollado adecuadamente.

Los problemas técnicos se han resuelto prácticamente en su totalidad con el modelo desarrollado por Monchick y Rusell (6) en 1.971, con pequeñas variaciones posteriores.

El desarrollo de técnicas de inmunosupresión, como la ciclosporina A y el Tacrolimus / FK-506, y de medios de preservación para otros órganos, han logrado grandes avances en el transplante de éstos. Todas estas técnicas no se han desarrollado con tanta intensidad en el intestino delgado.

Referente a los medios de preservación son numerosos los estudios realizados a nivel de órganos como riñón, corazón, hígado, páncreas y pulmón con abundantes referencias bibliográficas (21, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 199, 200), no siendo tan numerosas, estas, a nivel de intestino delgado. Son estudios realizados principalmente en perros (180, 181, 186, 187, 188, 201) con perfusión del aloinjerto y sin perfusión (187), con perfusión intraluminal de oxígeno y glucosa (202), administración de prednisona y clorpromazina (188), con perfusión a diferentes presiones (190) o con hipotermia únicamente (2). Todo ello aporta mayor confusión, si cabe, al no estar establecido ningún mecanismo de preservación intestinal generalmente consensuado por la comunidad científica.

Es por ello que el objeto de este trabajo es evaluar las alteraciones morfológicas producidas por los diferentes medios de preservación utilizados y aportar los resultados obtenidos con la intención de colaborar en este problema específico del transplante de intestino delgado como es el de la preservación.

Medios de preservación en el transplante de intestino delgado. Estudio experimental en la rata						
.*						
			•			

HIPOTESIS

HIPOTESIS

Los medios de preservación de órganos, y en particular del intestino delgado, destinados al transplante están en permanente evolución con el objetivo de conseguir que el órgano a transplantar llegue al organismo receptor en las mejores condiciones y que pueda guardarse el máximo tiempo posible conservando las máximas condiciones de viabilidad.

Dado que el transplante de intestino delgado es uno de los menos desarrollados, es por ello que este trabajo se centra en el estudio de los diversos medios de preservación que existen para demostrar cual de ellos es el mas eficaz.

Este estudio intentará demostrar:

- 1.- Cual de las soluciones habitualmente empleadas como medio de preservación en el transplante de órganos, Ringer Lactato, Collins y Belzer, es la más útil en el transplante intestinal experimental en la rata.
- 2.- La preservación afecta de manera distinta a las diferentes capas del intestino.
- 3.- Dependiendo del tiempo de preservación, las diferentes estructuras intestinales se afectan de manera distinta según la solución empleada.

Medios de preservación en el transplante de intestino delgado. Estudio experimental en la rata

OBJETIVOS

OBJETIVOS

- 1.- Averiguar que solución es la más adecuada para la preservación del intestino delgado utilizada en el transplante intestinal y la relación con el tiempo transcurrido desde la extracción.
- 2.- Averiguar el comportamiento de los diferentes tramos intestinales (duodeno, yeyuno e îleon) frente a la preservación con las diferentes soluciones.
- 3.- Averiguar el grado de afectación de la mucosa, lámina propia, submucosa y muscular intestinal según las diferentes soluciones empleadas.

Medios de preservación en el transplante de intestino delgado. Estudio experimental en la rata

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL Y METODOS

5.1.- Población de estudio.-

El animal de experimentación elegido ha sido la rata Sprague-Dawley, debido a su facilidad de manejo, reproducción y conservación. En nuestro trabajo se han utilizado únicamente hembras debido a su mejor tolerancia al método anestésico utilizado.

Los animales se encuentran estabulados en la 3ª planta del edificio de la Facultad de Medicina de Lleida en jaulas colectivas, sanos y libres de parásitos, con periodos de luz artificial de 12 horas y 12 de oscuridad. La temperatura se mantiene entre 22 y 24°C. Los animales tienen acceso libre al agua y la alimentación es a base de pienso equilibrado en su composición, tipo "Panlab A-4".

Se han tenido en cuenta las normas y recomendaciones internacionales sobre estabulación y tratamiento de animales de investigación.

En el momento de la intervención quirúrgica para la extracción del intestino delgado la edad media de los mismas oscilaba entre 12 y 14 semanas, con un peso que oscilaba de 250 a 300 gr..

Tanto el procedimiento anestésico, como la técnica quirúrgica para la extracción del intestino están perfectamente definidas (5), desarrolladas y han sido publicadas previamente por nosotros i otros autores(50, 193, 194, 195).

La rata Sprague-Dawley es el animal utilizado habitualmente en nuestros trabajos de experimentación y por tanto con el que estamos habituados a su manejo, razones por las cuales se le ha escogido para el desarrollo de esta investigación.

El número de animales empleados ha sido de 15 por grupo, en total 45 ratas. Se han utilizado en la fase de aprendizaje 40 animales hasta desarrollar correctamente la técnica de extracción de intestino delgado, perfusión y de preparación del mismo para su preservación.

5.2.- Variables.-

Estudiaremos como factores modificadores de la preservación del intestino delgado las soluciones de Ringer Lactato, Collins y de Belzer también conocida como solución de Wisconsin o UW.

Solución de Ringer lactato

Solución de COLLINS

Solución de Beltzer o de Wisconsin o UW

La composición de cada uno de ellos es:

RINGER LACTATO	COLLINS	BELTZER
Cloruro cálcico: 27 mg/l. Cloruro potásico: 40 mg/l. Cloruro Sódico: 600 mg /l. Acido láctico: 260 mg/l. Hidróxido de sodio: 117 mg/lAgua: c.s.p. 1000 cc mOsm/L: 280	Dextrosa anhidra parenteral: 25 grs. Fosfato monopotásico anhidro: 2,05 grs. Fosfato dipotásico 3HO: 9,7 grs. Bicarbonato sódico: 0,84 grs. Cloruro potásico: 1,12 grs. Agua para iny. c.s.p. 1000 cc mOsm/L: 355	Pentafracción: 50 gr./l. Acido lactobiónico: 35,83 gr./l. Fosfato potásico: 3,4 gr./l. Sulfato de Mg: 1,23 gr./l. Rafinosapentahidrato:17,83g7L Adenosina: 1,34 gr./l. Alopurinol: 0,136 gr./l. Glutation reducido: 0.922 gr./l. Hidroxido de Potasio: c.s.p. Hidroxido de sodio: para pH=7,4 Agua: c.s.p. 1 000 cc. mOsm/L: 320

La solución de Ringer lactato es estéril, apirógena e isotónica, su osmolaridad es de 280 mOsm/l y contiene 132 mEq/l de sodio, 5 de potasio, 4 de calcio, 112 de cloro y 29 de lactato como HCO₃.

La solución de Collins (178), estéril y apirógena, tiene una osmolaridad de 355 mOsm/l. Utilizada desde 1969 para preservación de riñón, inicialmente, supuso un adelanto cualitativo en la utilización de las diversas soluciones de preservación que había, hasta aquel momento, para transplante de órganos.

La solución de Beltzer (173) es estéril, apirógena, de color límpido a ligeramente amarillento. La osmolaridad está alrededor de 320 mOsm, con 20 mEq/l de sodio, 140 mEq/l de potasio con un pH de 7,4 a temperatura ambiente. La solución contiene hydroxyethylamidon, sustituto coloidal y no tóxico, que impide la infiltración del líquido en el espacio intracelular.

Se ha perfundido con ellos el árbol vascular mediante canulación con catéter del cuff aortomesentérico hasta obtener palidez de los vasos mesentéricos que irrigan el intestino y un efluente translúcido por la vena porta. Posteriormente se ha lavado la luz intestinal con el mismo líquido hasta obtener la mayor limpieza posible y por último se ha introducido todo el injerto intestinal, con sus pedículos vasculares, en 250 c.c. del líquido de preservación a 4 ° C.

5.3.- Procedimientos.-

Las intervenciones se han llevado a cabo en los quirófanos de Cirugía Experimental, ubicados en la 3ª planta del edificio de la Facultad de Medicina de la Universidad de Lleida, utilizando material quirúrgico habitual y de microcirugía (203, 204, 205, 206,207), con el apoyo de un microscopio quirúrgico Zeiss, OPMI-1. No se han utilizado grandes aumentos para realizar la mayoría de las maniobras, salvo para trabajar las pequeñas estructuras vasculares.

El instrumental microquirúrgico utilizado ha sido: pinzas de disección, curvas y rectas y tijeras de microcirugía de Castroviejo (203).

Se ha utilizado seda de 5/0 para la hemostasia mediante ligaduras de los vasos. Para realizar la perfusión se ha utilizado una cánula Abbocath 24G, con el que se canaliza la aorta para perfundir las diferentes soluciones de preservación: Ringer Lactato, Collins y Belzer, a una distancia de 1m. del plano operatorio (206, 207, 208) y mediante un equipo de gotero se perfunde la solución.

Se han empleado recipientes de cristal de 500 cc de capacidad para guardar los injertos intestinales y que a su vez se introducían en otro, de plástico, de 1500 cc con hielo picado para mantener la hipotermia durante el traslado al frigorífico.

Suprimida la alimentación sólida 24 horas antes de la intervención y con agua "ad libitum" hasta la misma, se anestesian los animales de experimentación con hidrato de cloral al 4,5%, por vía intraperitoneal, y a la dosis de 1 c.c. por cada 100 grs. de peso (203, 209).

Una vez anestesiado el animal es sometido a rasurado de la pared abdominal y sujeto a la mesa de intervención, en la posición de decúbito supino, mediante cinta adhesiva en sus extremidades y sujeción de la cabeza con seda de 3/0 que unía los incisivos a la mesa quirúrgica.

Todas la intervenciones se han realizado en situación de limpieza pero no de estricta asepsia y con técnicas quirúrgicas y microquirúrgicas (205, 206, 209, 211, 212).

Mediante laparotomía, con bisturí, siguiendo la linea media del abdomen se llega a la cavidad abdominal y siguiendo la técnica de Monchik y Rusell (6), se procede a la extracción del intestino delgado para lo cual habremos disecando la porción de aorta que incluye la arteria mesentérica formando un cuff aortomesentérico, (fig. 1), y asímismo disecamos la vena porta y ligamos sus colaterales (fig. 2). Se diseca el yeyuno y el íleon de sus adherencias al colon y el duodeno del páncreas obteniendo una pieza formada por duodeno, yeyuno e íleon, anclada al abdomen por la vena porta, arteria aorta y las uniones gastroduodenal e ileocólica. Para facilitar la obtención del injerto es necesario liberar y desplazar el colon descendente previa ligadura de los vasos del ángulo esplénico, colon pélvico y arcada marginal (193, 194). (Leyenda de las figuras 1, 2 y 3: a: aorta, m: mesentérica, p: porta).

Ligada la arteria aorta, en sus extremos proximal y distal, la canalizamos con un catéter por su porción distal y perfundimos acto seguido, (fig. 3) con el líquido de preservación, a una temperatura de 4° C, pasado de la arteria mesentérica y a todo el árbol vascular del intestino delgado hasta conseguir la desaparición de todo signo de vascularización del mesenterio y del intestino, (fig. 4 (antes de la perfusión) y 5 (después de la perfusión)), obteniendo a través de la vena porta un efluente completamente transparente. Esta perfusión se realiza por gravedad desde 100 cm. de altura (206, 207, 208) y con una duración de 12 a 16 minutos.

Acto seguido, seccionamos a nivel gastroduodenal, ileocólico, aorta y porta obteniendo un injerto compuesto por:

porción duodenal, yeyuno, ileon cuff aortomesentérico, vena porta.

Se procede a la limpieza de la luz intestinal de la misma forma que hemos realizado la perfusión vascular hasta obtener un líquido limpio y transparente; sumergimos la pieza en un recipiente de cristal con 250 c.c. de líquido de perfusión,

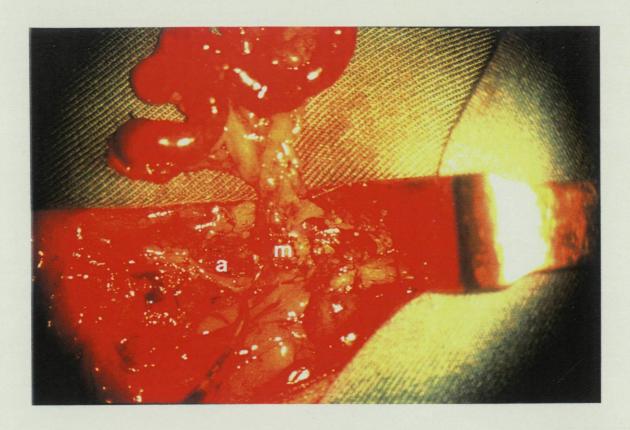


Figura 1

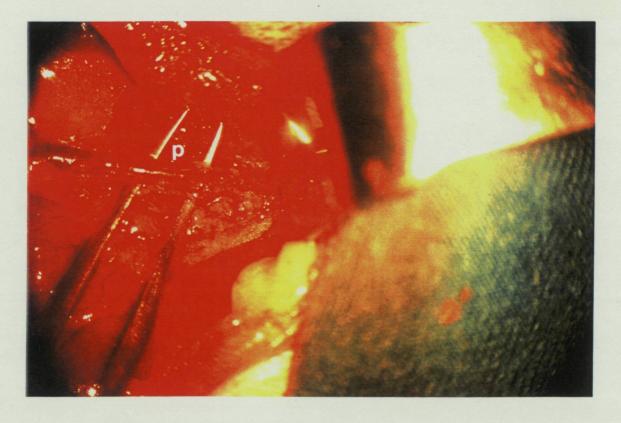


Figura 2

Estudio experimental en la rata

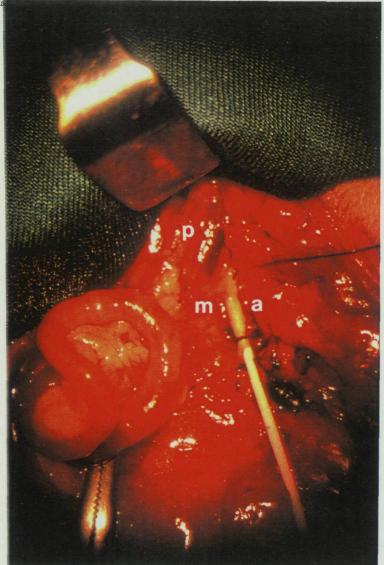


Figura 3

guardándolo en frigorífico a 4°C. Para su transporte hasta el mismo utilizamos otro recipiente de plástico, de mayor volumen y con hielo picado.

Se han obtenido muestras de intestino procedentes de duodeno, yeyuno e íleon, a las 2, 6, 12, 18 y 24 horas tras la extracción del mismo.

Las muestras de intestino, de un tamaño entre 0,5 y 1 cm. de longitud, se obtienen mediante sección con bisturí para introducirlas individualmente en frascos de cristal con una solución de formol al 4%, donde las guardaremos hasta su procesado para el estudio histológico. El resto de intestino se introduce nuevamente en la solución de preservación correspondiente volviendo a depositarse en el frigorífico.



Figura 4



Figura 5

El procesamiento histológico de las muestras se realizó en los laboratorios del 2º piso de la citada Facultad, utilizando el material necesario para realizar las preparaciones histológicas: recipientes de vidrio, estufa para obtener los bloques de parafina, microtomo, portas, cubreportas y las diversas soluciones de alcoholes, xiloles, ácido clorhídrico y de hematoxilina-eosina. El estudio microscópico de las muestras se ha realizado con un microscopio Nikon Alphaphot 2.

Una vez obtenidas las piezas de las distintas porciones de intestino se introducen, cada una, en un frasco de vidrio con 25 c.c. de una solución de formol a una concentración del 4% en agua destilada. Las piezas son identificadas mediante un número aleatorio evitando así, en su procesado posterior, el saber a que grupo de líquido de preservación pertenece hasta finalizado el mismo.

Posteriormente se desecan con diversas soluciones de alcoholes y de xiloles y se incluyen en bloques de parafina para, después, proceder a su corte con el microtomo en láminas de 0,5 micras, montándose en portas y tras una tinción con el método de hematoxilina-eoxina proceder a su estudio con el microscopio y apreciar el grado de afectación hística de cada muestra.

El modelo de hoja de recogida de datos para el estudio histológico ha sido como el que se muestra a continuación:

·									
RATA N°									
fecha:									
		Prep	. n°		Prep	n°		Prep n	ı°
MUSCULAR EXTERNA	0	1	2	0	1	2	0	1	2
MUSCULAR INTERNA	0	1	2	0	1	2	0	1	2
SUBMUCOSA	0	1	2	0	1	2	. 0	1	2
MUSCULARIS MUCOSAE	0	1	2	0	1	2	0	1	2
GLAND. INTESTINALES	0	1	2	0	1.	2	0	1	2
VELLOSIDADES	0	1	2	0	_ 1	2	0	1	2
		Prep	. nº		Prep	n°]	Prep n	ı°
MUSCULAR EXTERNA	0	1	2	0	1	2	0	1	2
MUSCULAR INTERNA	0	1	2	0	1	2	0	1	2
SUBMUCOSA	0	1	2	0	1	2	0	1	2
MUSCULARIS MUCOSAE	0	1	2	0	1	2	0	1	2
GLAND. INTESTINALES	0	1	2	0	1	2	0	1	2
VELLOSIDADES	0	1	2	0	1	2	0	1	2
		Prep	. nº		Prep	n°	I	Prep n	0
MUSCULAR EXTERNA	0	ı	2	0	1	2	0	1	2
MUSCULAR INTERNA	0	1	2	0	1	2	0	1	2
SUBMUCOSA	0	1	2	0	1	2	0	1	2
MUSCULARIS MUCOSAE	0	1	2	0	1	2	0	1	2
GLAND. INTESTINALES	0	1	2	0	. 1	2	0	1	2
VELLOSIDADES	0	1	2	0	1	2	0	1	2

Roberta Sonnino y su grupo (171) propusieron en 1992 un sistema de clasificación para valorar los cambios histológicos en el transplante intestinal dado que la valoración histológica del intestino transplantado es la mejor forma de monitorizar su evolución en la fase posterior al transplante y de poder prever posibles complicaciones de rechazo, tal como se refleja en el punto 1.4.

Los criterios para la valoración de nuestras muestras son:

La capa muscular, (44, 213), al poder identificarse una capa longitudinal en la parte externa y una capa circular en la más interna, se ha dividido para una mejor valoración en muscular externa e interna, correspondiendo a las fibras longitudinales y circulares respectivamente. Podemos encontrar: aspecto normal, grado 0, separación de fibras musculares, grado 1 y desestructuración de las células musculares, grado 2.

La submucosa, (214), compuesta por fibras colágenas burdas y fibras elásticas, contiene tejido adiposo y en la submucosa duodenal podemos encontrar las glándulas duodenales de Brunner. Grado 0 cuando sea de aspecto normal , 1 cuando exista edema

La mucosa intestinal, (171, 211), consta de un epitelio prismático simple, lámina propia y muscularis mucosae. La mucosa contiene un gran número de vellosidades. Las glándulas intestinales son glándulas tubulares simples que desembocan entre las bases de las vellosidades y que se extienden a través de la mucosa hasta la muscularis mucosae estando separadas entre si por el tejido conectivo de la lámina propia.

La muscularis mucosae, formada por músculo liso, separa la mucosa de la submucosa y se valorará su integridad, de aspecto normal, grado 0, grado 1 cuando sea posible la identificación de la misma aunque existan alteraciones como edema o desestructuración, y grado 2 cuando no se pueda identificar por los daños estructurales.

Las glándulas intestinales o de Lieberkühn se encuentran entre los puntos de inserción de las vellosidades en la mucosa, son glándulas tubulares simples (167). Grado 0, si el aspecto es normal, grado 1 cuando halla degeneración celular y grado 2 si existe degeneración y desorganización celular

En las vellosidades se valorará el grado de desprendimiento del epitelio cilíndrico simple. Grado 0 epitelio intacto, grado 1 epitelio desprendido parcialmente y grado 2 eliminación completa del mismo.

Conocida la capacidad regenerativa del epitelio cilíndrico de las vellosidades (184, 215), se ha considerado para el estudio estadístico reunir los grupos 0 y 1 en uno solo formando el grupo 1 y que consideramos con elevadas posibilidades de viabilidad, tanto morfológicas como funcionales (215). En el 2º grupo seguirá como grupo 2 con la característica de ser improbable su recuperación siendo habitualmente inviable por el elevado grado de destrucción.

5.4.- Descripción análisis estadístico.-

Para la recopilación y tratamiento de datos se ha utilizado un ordenador PC personal con los programas de Microsoft, Word, de texto, y Excel de cálculo.

El análisis estadístico de los resultados se ha realizado con el programa estadístico SPSS 5.1.

Se utiliza como hoja de registro el siguiente modelo, teniendo en cuenta que cada animal tendrá tres hojas, una por segmento intestinal: duodeno, yeyuno o ileon

PRESERVAC	CION INTESTINO DELGADO. TRANS	SPLANTE INTESTINAL EXPERIMENTAL
Fecha:	J	Segmento:
Animal nº	Peso: grs.	Hidrato de Cloral: c.c.
Tiempo de extr	racción: minutos	
Tiempo de peri	fusión: minutos	
Solución de pr	reservación:	
Tiempo de pres	servación muestras:	
Nº identif:	2 horas pieza nº	6 horas pieza nº
	12 horas pieza nº	18 horas pieza nº
	24 horas pieza nº	
INCIDENCIAS	S:	

Que contempla las siguientes variables:

Descriptiva del animal:

Peso, expresado en grs..

Segmento intestinal que corresponde a la pieza:

duodeno, yeyuno o ileon

Descriptiva de la técnica:

Hidrato de cloral: Cantidad del líquido para anestesia, en cc.

Tiempo de extracción: Tiempo necesario desde el comienzo de la intervención (laparotomía) hasta la extracción del injerto con su pedículo vascular de arteria mesentérica más cuff de aorta y vena porta. Expresado en minutos.

Tiempo de perfusión: Tiempo necesario empleado en perfundir el injerto mediante cateterización de la aorta hasta conseguir un efluente límpido y transparente por la vena porta. Expresado en minutos.

Solución empleada: Ringer lactato, Collins o Belzer.

Tiempo de preservación: El tiempo que ha estado el intestino en el interior del líquido de preservación hasta la obtención de la muestra correspondiente a la que se identifica con un nº.

Identificación: Número que se le asigna a cada muestra.

INCIDENCIAS: Alteraciones que puedan ocurrir: extravío, pérdida de la cadena del frío, traumatismos, etc.

El análisis estadístico de los resultados obtenidos se ha realizado mediante una prueba estadística para el estudio y comparación de series temporales. Se ha empleado la prueba no paramétrica de Log Rank reforzada con las de Breslow y de Tarone-Ware.

Los tiempos utilizados son los transcurridos desde la extracción e introducción en la solución de preservación hasta la pérdida de viabilidad de la muestra (en horas), de modo que el llamado "estudio de supervivencia" es el estudio de preservación de la viabilidad del injerto.

Se han estimado los intervalos de confianza al 95% de los tiempos medios.

Se considera significativo cuando se obtiene una p < 0.05 y muy significativo cuando el valor encontrado de la p es < 0.001.

Medios de preservación en el transplante de intestino delgado. Estudio experimental en la rata

RESULTADOS

RESULTADOS

1.- Descriptiva.-

En cada uno de los tres grupos estudiados, se ha trabajado con 15 animales, estudiando un total de 45 intestinos delgados. De cada uno de ellos se han tomado 15 piezas para estudio histológico, correspondientes a los segmentos duodenal, yeyunal e ileal y en los intervalos de 2, 6, 12, 18 y 24 horas, lo que supone un total de 675 piezas preparadas para corte. Se hicieron tres preparaciones en porta de cada una de ellas, para estudio microscópico recogiendo la que se encontraba en mejores condiciones para su estudio. En total se ha trabajado con 1925 preparaciones histológicas desechando dos tercios de ellas, quedando en 675 preparaciones.

En resumen:

Nº de intestinos delgados estudiados:	45
N° de piezas :	675
Nº de cortes histológicos realizados:	1925

El peso medio de los animales empleados ha sido de 240 grs. con un mínimo de 215 grs. y un peso máximo de 280 grs.

El tiempo de extracción ha variado de 42 a 78 minutos con un media de 60 minutos en el total de los tres grupos.

El tiempo de perfusión vascular a través de aorta, arteria mesentérica, vasos mesentéricos y porta ha sido de 12 minutos (± 3), en que se ha conseguido un efluente totalmente transparente por la vena porta.

El lavado de la luz intestinal ha tenido una duración media de 25 minutos.

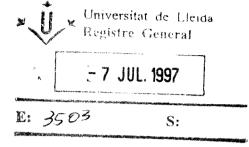
En forma de tablas se presentan los resultados obtenidos de acuerdo al nivel de afectación de las diferentes capas como se ha relatado en el capítulo de material y métodos de acuerdo a que no haya ninguna afectación, grado 0; la presencia de alteraciones de la estructura celular no muy intensa y que no comprometen una posterior recuperación, grado 1; y la observación de graves alteraciones a nivel de las capas intestinales que las hacen inidentificables y que hagan habitualmente inviable una recuperación posterior, grado 2.

Se exponen, a continuación, los resultados obtenidos según las diferentes soluciones de preservación y segmentos intestinales, duodeno, yeyuno e íleon con el número de muestras encontradas según su grado de afectación, (0, 1 y 2), y grupo horario, (2, 6, 12, 18 y 24 horas). En las últimas tablas se reflejan los resultados obtenidos con las distintas soluciones agrupando el grado de afectación 0 y 1 de las tablas anteriores en el grupo 1, con elevada capacidad de recuperación, y el grupo 2 con alteraciones más importantes, todo ello en los tres segmentos intestinales y en todo el intestino conjuntamente.

Man PART I

UNIVERSIDAD DE LLEIDA

FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

"MEDIOS DE PRESERVACIÓN EN EL TRANSPLANTE DE INTESTINO DELGADO. ESTUDIO EXPERIMENTAL EN LA RATA".



LUIS MANUEL MARCO ESTARREADO

LLEIDA 1997

DUODENO

-RINGER LACTATO-

	2 horas	6 horas	12 horas	18 horas	24 horas
0	15	10	6	0	0
M.EXTER 1	0	5	6	7	4
2	0	0	3	8	11
					·
0	15	0	0	0	0
M. INTER 1	0	8	3	0	0
2	0	7	12	15	15
				<u> 1</u> 18-1-1 <u>313</u> - 1	
0	14	0	0	0	0
SUBMUC 1	1	6	3	0	0
2	0	9	12	15	15
0	14	0	0	0 .	0
M. MUCO 1	1	5	2	0	0
2	0	10	13	15	15
0	14	0	0	0	0
GLAN.INT 1	1	4	0	0	0
2	0	11	15	15	15
·					
0	12	0	0	0	0
VELLOSI. 1	3	3	0	0	0
2	0	12	15	15	15

Se observa una viabilidad del injerto en un 93,33% de las muestras a las dos horas, disminuyendo al 33,33% a las 6 horas y al 13,33% a las 12 horas, no habiendo viabilidad a partir de las 18 horas.

DUODENO

-SOLUCION DE COLLINS-

	tra kajajaj	2 horas	6 horas	12 horas 1	8 horas	24 horas
	0	15	14	10	8	6
M.EXTER	1	0	1	5	5	7
	2	0	0	0	2	2
						. i
	0	15	12	11	7	5
M. INTER	1	0	3	3	5	7
	2	0	0	1	3	3
	0	15	12	7	3	2
SUBMUC	1	0	3	6	8	9
	2	0	0	2	4	4
	0	15	8	6	4	0
M. MUCO	1	0	7	6	6	10
	2	0	0	3	5	5
	100		<u> </u>			
	0	15	8	5	3	0
GLAN.INT	' 1	0	7	6	6	9
	2	0	0	4	6	6
	0	13	8	2	0	0
VELLOSI.	1	2	6	8	9	7
	2	0	1	5	6	8

Se refleja una viabilidad del injerto en un 100% de las muestras a las seis horas, disminuyendo al 80% a las 12 horas y al 66,66% a partir de las 18 horas, no variando posteriormente.

DUODENO

-SOLUCION DE BELZER-

	2 horas	6 horas	12 horas	18 horas	24 horas
0	15	14	10	7	6
M.EXTER 1	0	1	4	6	7
2	0	0	1	2	2
0	15	13	10	7	5
M. INTER 1	0	2	4	6	8
2	0	0	1	2	2
0	14	12	7	4	2
SUBMUC 1	1	3	5	8	9
2	0	0	3	3	4
0	14	10	8	4	0
M. MUCO 1	1	5	5	7	9
2	0	0	2	4	6
	<u> </u>	<u>i ji ke s</u> i			
0	13	9	7	2	0
GLAN.INT 1	2	5	6	8	10
2	0	1	2	5	5
0	13	8	6	1	0
VELLOSI. 1	2	5	5	4	1
2	0	2	4	10	14

Apreciamos una viabilidad del injerto en un 100% de las muestras a las 6 horas, disminuyendo al 86,66% a las 12 horas y al 73,33% a las 18 horas, para establecerse en un 60% a las 24 horas del comienzo de la preservación.

Seguidamente se pueden observar estos resultados en los gráficos 1 al 6 referidos al segmento duodenal, las diversas capas y su afectación según las diferentes soluciones de preservación, Ringer Lactato, Collins y Belzer a lo largo de 24 horas.

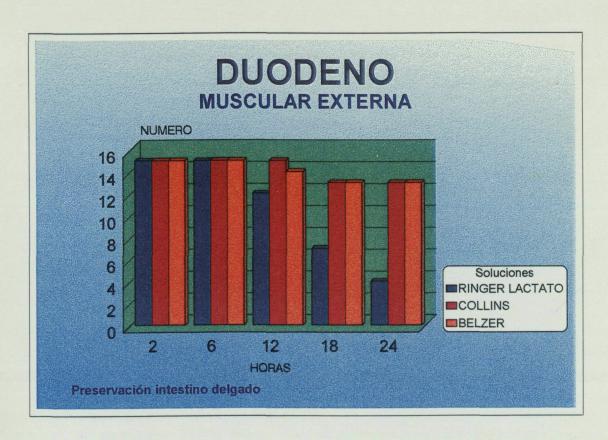
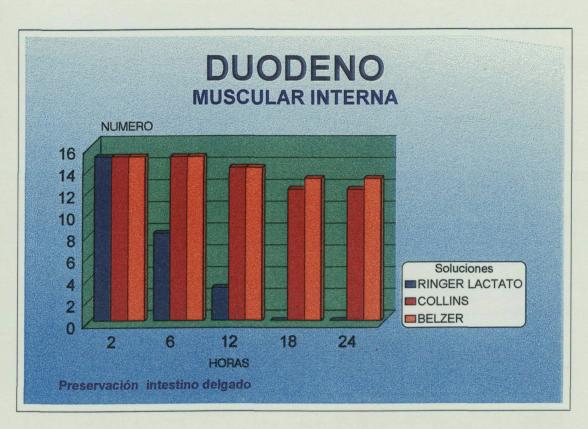


Gráfico 1



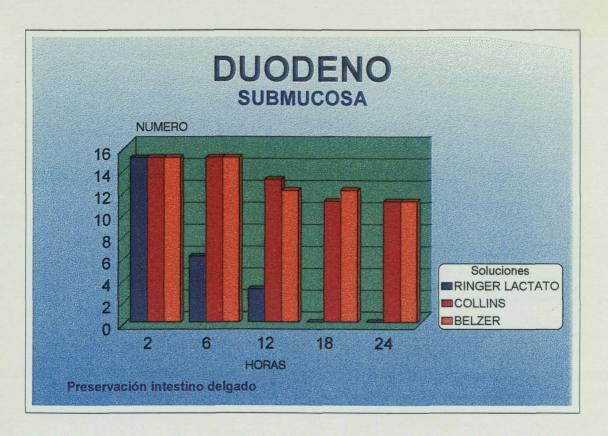
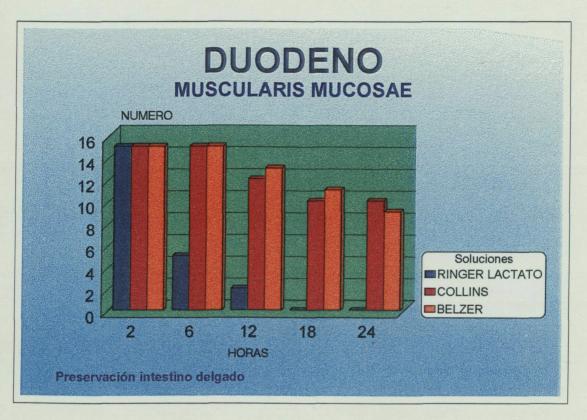


Gráfico 3



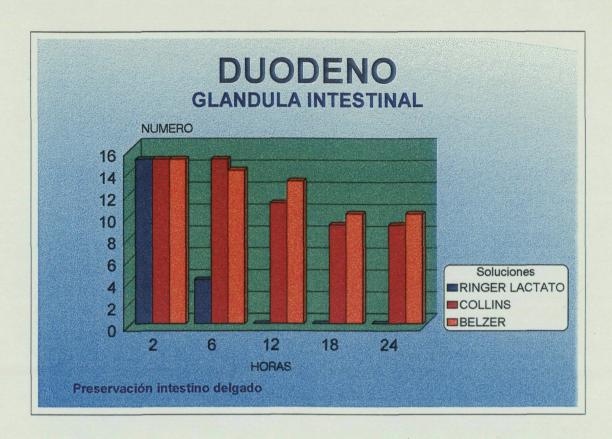
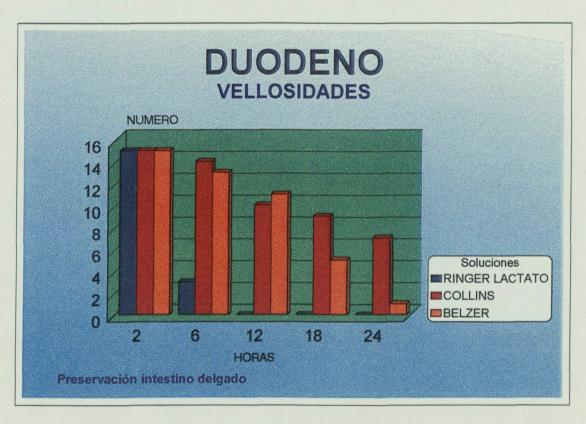


Gráfico 5



YEYUNO

-RINGER LACTATO-

	2 horas	6 horas	12 horas	18 horas	24 horas
0	15	11	4	0	0
M.EXTER 1	0	4	7	8	3
2	0	0	4	7	12
0	15	2	0	0	0
M. INTER 1	0	6	3	0	0
2	0	7	12	15	15
0	15	2	0	0	0
SUBMUC 1	0	6	3	0	0
2	0	7	12	15	15
0	15	0	0	0	0
M. MUCO 1	0	8	2	0	0
2	0	7	13	15	15
0	14	0	0	0	0
GLAN.INT 1	1	4	0	0	0
2	0	11	15	15	15
0	12	0	0	0	0
VELLOSI. 1	3	3	0	0	0
2	0	12	15	15	15

Se observa una viabilidad del injerto en un 100% de las muestras a las dos horas, disminuyendo al 53,33% a las 6 horas y al 13,33% a las 12 horas, no habiendo viabilidad a partir de las 18 horas.

YEYUNO

-SOLUCION DE COLLINS-

	2 horas	6 horas	12 horas	18 horas	24 horas
0	15	14	9	6	4
M.EXTER 1	0	1	6	7	7
2	0	0	0	2	4
0	15	12	10	6	4
M. INTER 1	0	3	3	5	7
2	0	0	2	4	4
0	15	11	6	3	2
SUBMUC 1	0	4	6	8	8
2	0	0	3	4	5
	<u>ta iki ki ki ki ki</u>				
0	15	8	5	3	0
M. MUCO 1	0	7	7	8	10
2	0	0	3	4	5
0	15	7	4	1	0
GLAN.INT 1	0	8	7	9	6
2	0	0	4	5	9
0	13	7	2	5	0
VELLOSI. 1	2	7	8	9	4
2	0	1	5	6	, 11

Se aprecia una viabilidad del injerto en un 100% de las muestras a las 6 horas, disminuyendo al 80% a las 12 horas y al 73,33% a las 18 horas, quedando a las 24 horas un 66,66% de los injertos viables.

YEYUNO

-SOLUCION DE BELZER-

	2 horas	6 horas	12 horas	18 horas	24 horas
0	15	14	8	7	5
M.EXTER 1	0	1	6	5	7
2	0	0	1	3	3
0	15	13	8	5	3
M. INTER 1	0	2	6	5	7
2	0	0	11	5	5
0	14	12	7	3	2
SUBMUC 1	1	3	5	7	8
2	0	0	3	5	5
0	14	9	6	3	0
M. MUCO 1	1	6	6	7	9
2	0	0	3	5	6
			<u> </u>		
0	14	9	4	2	0
GLAN.INT 1	1	4	7	8	8
2	0	2	4	5	7
0	13	7	4	2	0
VELLOSI. 1	2	6	5	4	2
2	0	2	6	9 .	13

Se refleja una viabilidad del injerto en un 100% de las muestras a las 6 horas, disminuyendo al 80% a las 12 horas y al 66,66% a las 18 horas, quedando a partir de las 24 horas en un 60% de las muestras que son viables.

En las tres páginas siguientes se pueden observar estos resultados en gráficos numerados del 7 al 12 referidos al segmento yeyunal, las diversas capas y su afectación según las diferentes soluciones de preservación, Ringer Lactato, Collins y Belzer a lo largo de 24 horas.

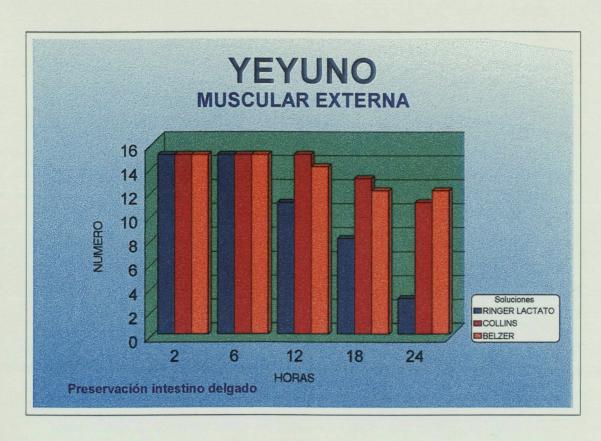
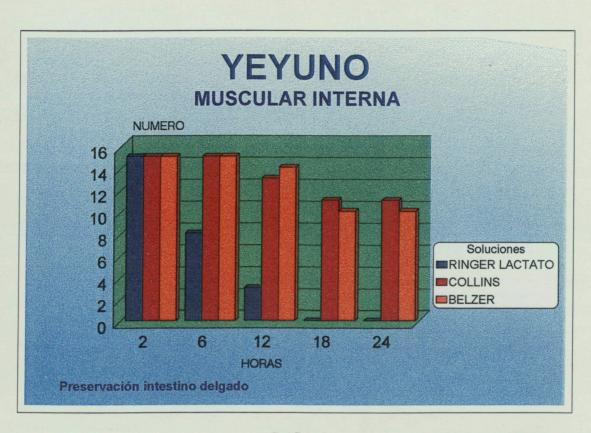


Gráfico 7



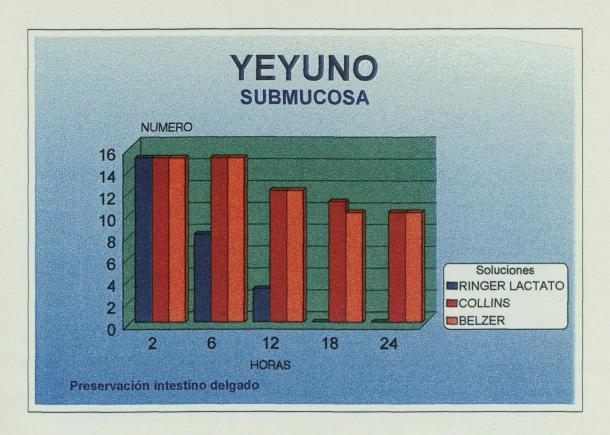
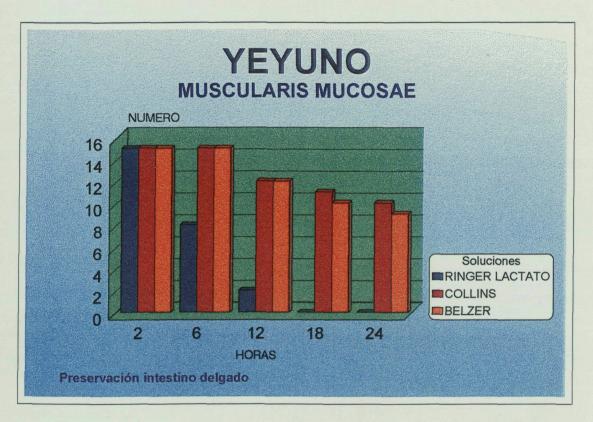


Gráfico 9



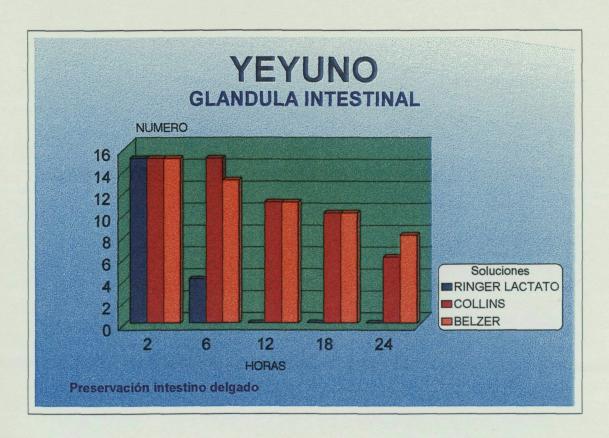
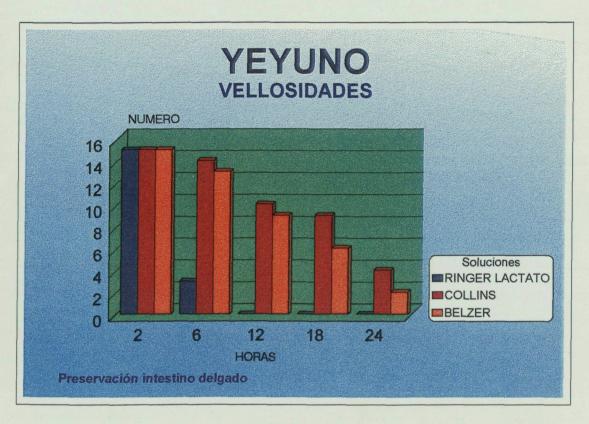


Gráfico 11



ILEON

-RINGER LACTATO-

	2 horas	6 horas	12 horas	18 horas	24 horas
0	15	10	2	0	0
M.EXTER 1	0	5	7	9	3
2	0	0	6	6	12
0	15	0	0	0	0
M. INTER 1	0	10	4	2	1
2	0	5	11	13_	14
	ela reportaj la Est				
0	15	0	0	0	0
SUBMUC 1	0	7	3	1	0
2	_0	_ 8	12	14	15
0	14	0	0	0	0
M. MUCO 1	1	6	2	0	0
2	0	9	13	15	15
0	13	0	0	0	0
GLAN.INT 1	2	4	0	0	0
2	0	11	15	15	15
0	12	0	0	0	0
VELLOSI. 1	3	4	0	0	0
			15	15	15

Se objetiva una viabilidad del injerto en un 100% de las muestras a las dos horas, disminuyendo al 40% a las 6 horas y al 13,33% a las 12 horas, no habiendo viabilidad a partir de las 18 horas.

ILEON

-SOLUCION DE COLLINS-

		2 horas	6 horas	12 horas	18 horas	24 horas
	0	15	14	10	7	5
M.EXTER	1	0	1	4	6	8
	2	0	0	1	22	2
	. 0					
	0	15	12	10	6	2
M. INTER	1	0	3	4	5	7
	2	0	0	1	4	6
	0	15	12	10	6	2
SUBMUC	1	0	2	3	5	7
	2	0	1	2	4 .	6
• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	0	15	10	7	4	0
M. MUCO	1	0	4	5	6	7
	2	0	1	3	5	8
	0	15	9	6	2	0
GLAN.INT	1	0	5	4	5	2
	2	0	1	5	8	13
	i j					
	0	15	6	3	0	0
VELLOSI.	1	0	8	5	5	0
	2	0	1	7	10	15

Observamos una viabilidad del injerto en un 100% de las muestras a las dos horas, disminuyendo al 93,33% a las 6 horas, al 80% a las 12 horas, al 66,66% a las 18 horas, resultando un 46,66% de injertos viables a las 24 horas.

ILEON

-SOLUCION DE BELZER-

	2 horas	6 horas	12 horas	18 horas	24 horas
0	15	15	13	7	6
M.EXTER 1	0	0	1	5	6
2	0	0	1	3	3
0	15	13	12	6	4
M. INTER 1	0	2	2	4	4
2	0	0	1	5	7
0	15	11	10	3	0
SUBMUC 1	0	4	4	5	5
2	0	0	1	7	10
				· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	
0				1	0
				1 5	
0	15	9	8	1	0
0 M. MUCO 1	15 0	9	8 4	1 5 9	0 3
0 M. MUCO 1	15 0	9	8 4	1 5 9	0 3 12
0 M. MUCO 1 2	15 0 0	9 5 1	8 4 3	1 5 9	0 3 12
0 M. MUCO 1 2 0 GLAN.INT 1	15 0 0	9 5 1	8 4 3	1 5 9	0 3 12
0 M. MUCO 1 2 0 GLAN.INT 1	15 0 0	9 5 1	8 4 3 5 5	1 5 9	0 3 12 0
0 M. MUCO 1 2 0 GLAN.INT 1	15 0 0	9 5 1	8 4 3 5 5	1 5 9	0 3 12 0 0 15
0 M. MUCO 1 2 0 GLAN.INT 1	15 0 0	9 5 1 7 7	8 4 3 5 5	1 5 9 0 3 12	0 3 12 0 0 15

Apreciamos una viabilidad del injerto en un 100% de las muestras a las dos horas, disminuyendo al 93,33% a las 6 horas y al 80% a las 12 horas, bajando al 40% a las 18 horas y quedando un 20% de las muestra en condiciones de viabilidad a las 24 horas.

En las tres páginas siguientes se pueden observar estos resultados en gráficos numerados del 13 al 18 referidos al segmento ileal, las diversas capas y su afectación según las diferentes soluciones de preservación, Ringer Lactato, Collins y Belzer a lo largo de 24 horas.

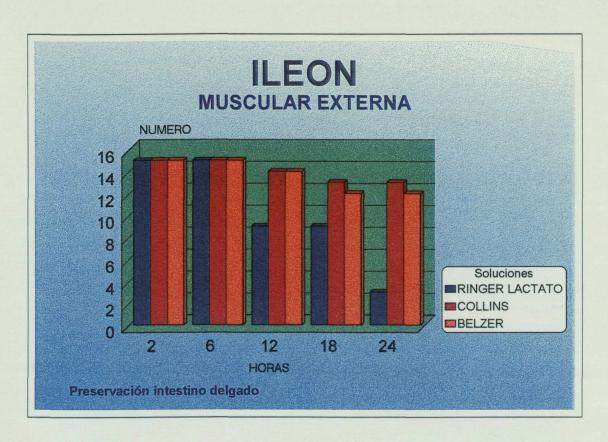
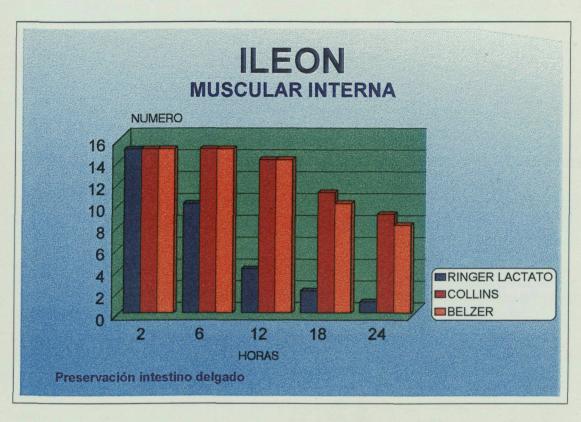


Gráfico 13



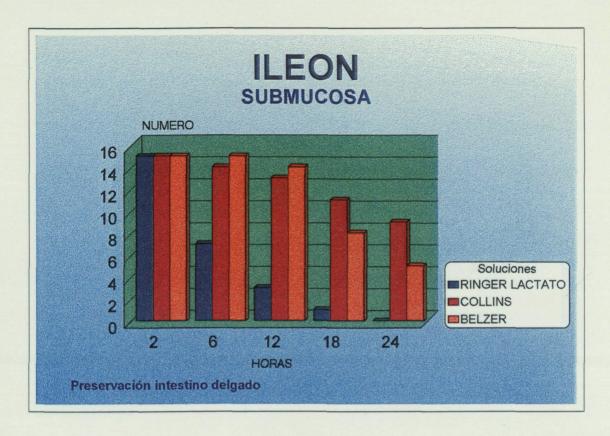
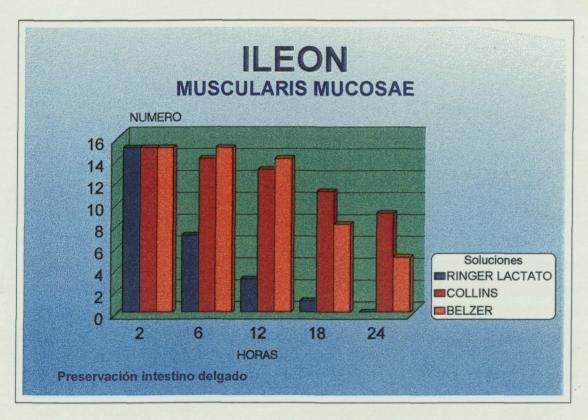


Gráfico 15



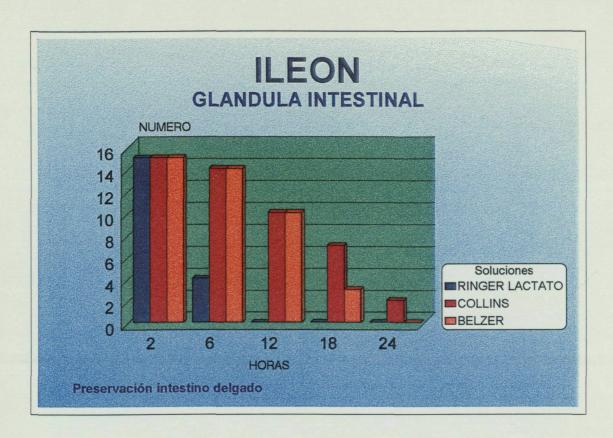
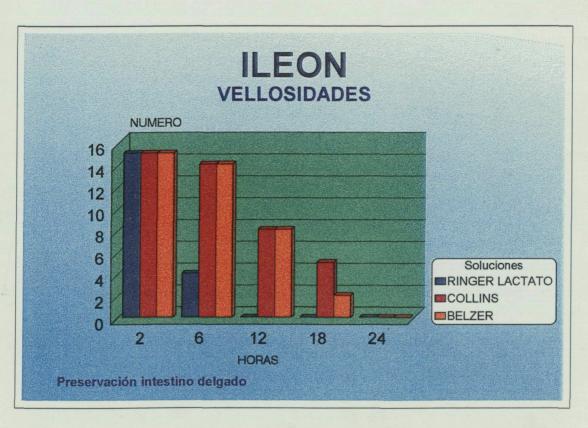


Gráfico 17



A continuación se exponen los resultados obtenidos, de acuerdo a la capacidad de recuperación morfológica y funcional de las distintas capas de los diferentes segmentos (184) en dos grupos reuniendo a los grupos 0 y 1 de las tablas anteriores en el grupo 1, que son las muestras que tienen elevadas posibilidades de recuperación tras su reimplante y el grupo 2, que debido a las alteraciones sufridas en su estructura han sufrido graves daños y son de difícil recuperación.

SOLUCION DE RINGER LACTATO.- DUODENO

. — — — — — — — — — — — — — — — — — — —		002001011	22101102	AC 231 10 11 11 0.	DOODLING	
2 horas		6 horas	12 horas	18 horas	24 horas	
M.EXTER	1	15	15	12	7	4
	2	0	0	3	8	11
M. INTER	1	15	8	3	0	0
	2	0	7	12	15	15
SUBMUC	1	15	6	3	0	0
	2	0	9	12	15	15
* *						
M. MUCO	1	15	5	2	0 ·	0
	2	0	10	13	15	15
GLAN.INT	1	15	4	0	0	0
	2	0	11	15	15	15
VELLOSI.	1	15	3	0	0	0
	2	0	12 .	15	15	15

Se observa una viabilidad del injerto en un 93,33% de las muestras a las dos horas, disminuyendo al 33,33% a las 6 horas y al 13,33% a las 12 horas, no habiendo viabilidad a partir de las 18 horas.

SOLUCION DE RINGER LACTATO.- YEYUNO

		2 horas	6 horas	12 horas	18 horas	24 horas
M.EXTER	1	15	15	11	8	3
	2	0	0	4	7	12
M. INTER	1	15	8	3	0	0
	2	0	7	12	15	15
SUBMUC	1	15	8	3	0	0
	2	0	7	12	15	15
	: 1					
M. MUCO	1	15	8	2	0	0
	2	0	7	13	15	15
GLAN.INT	1	15	4	0	0 -	0
	2	0	. 11	15	15	15
VELLOSI.	1	15	3	0	0	0
	2	0	12	15	15	15

Se observa una viabilidad del injerto en un 100% de las muestras a las dos horas, disminuyendo al 53,33% a las 6 horas y al 13,33% a las 12 horas, no habiendo viabilidad a partir de las 18 horas.

SOLUCION DE RINGER LACTATO.- ILEON

		2 horas	6 horas	12 horas	18 horas	24 horas
M.EXTER	1	15	15	9	9	3
	2	0	0	6	6	12
M. INTER	1	15	10	4	2	1
	2	0	5	11	13	14
SUBMUC	1	15	7	3	1	0
	2	0	8	12	14	15
M. MUCO	1	15	6	2	0	0
	2	0	9	13	15	15
	,					
GLAN.INT	1	15	4	0 ,	0	0
	2	0	11	15	15	15
			· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·			
VELLOSI.	1	15	4	0	0	0
	2	0	11	15	15	15

Se objetiva una viabilidad del injerto en un 100% de las muestras a las dos horas, disminuyendo al 40% a las 6 horas y al 13,33% a las 12 horas, no habiendo viabilidad a partir de las 18 horas.

SOLUCION DE COLLINS.- DUODENO

		2 horas	6 horas	12 horas	18 horas	24 horas
M.EXTER	1	15	15	15	13	13
	2	0	0	0	2	2
M. INTER	1	15	15	14	12	12
	2	0	0	1	3	3
SUBMUC	1	15	15	13	11	11
	2	0	0	2	4	4
M. MUCO	1	15	15	12	10	10
	2	0	0	3	5	5
						en erajour estatou. En eskolatour estatour
GLAN.INT	1	15	15	11	9	9
	2	0	0	4	6	6
VELLOSI.	1	15	14	10	9	7
	2	0	1	5	6	8

Se refleja una viabilidad del injerto en un 100% de las muestras a las seis horas, disminuyendo al 80% a las 12 horas y al 66,66% a partir de las 18 horas, no variando posteriormente.



SOLUCION DE COLLINS.- YEYUNO

		2 horas	6 horas	12 horas	18 horas	24 horas
M.EXTER	1	15	15	15	13	11
	2	0	0	0	2	4
M. INTER	1	15	15	13	11	11
	2	0	0	2	4	4
		4 4 .				
SUBMUC	1	15	15	12	11	10
	2	0	0	3	4	5
M. MUCO	1	15	15	12	11	10
	2	0	0	3	4	5
GLAN.INT	1	15	15	11	10	6
	2	0	0	4	5	9
VELLOSI.	1	15	14	10	9	4
	2	0	1	5	6	11

Se aprecia una viabilidad del injerto en un 100% de las muestras a las 6 horas, disminuyendo al 80% a las 12 horas y al 73,33% a las 18 horas, quedando a las 24 horas un 66,66% de los injertos viables.

SOLUCION DE COLLINS.- ILEON

		2 horas	6 horas	12 horas	18 horas	24 horas
M.EXTER	1	15	15	14	13	13
	2	0	0	1	2	2
M. INTER	1	15	15	14	11	9
	2	0	0	1	4	6
SUBMUC	1	15	14	13	11	9
	2	0	1	2	4	6
M. MUCO	1	15	14	12	10	7
	2	0	1	3	5	8
GLAN.INT	1	15	14	10	7	2
	2	0	1	5	8	13
VELLOSI.	1	15	14	8	5	0
	2	0	1	7	10	15

Se observa una viabilidad del injerto en un 93,33% de las muestras a las dos horas, disminuyendo al 33,33% a las 6 horas y al 13,33% a las 12 horas, no habiendo viabilidad a partir de las 18 horas.

SOLUCION DE BELZER. - DUODENO

		2 horas	6 horas	12 horas	18 horas	24 horas
M.EXTER	1	15	15	14	13	13
	2	0	0	11	2	2
M. INTER	1	15	15	14	13	13
	2	0	0	11	2	2
and the	1,2		g the distance of			
SUBMUC	1	15	15	12	12	11
	2	0	0	3	3	4
M. MUCO	1	15	15	13	11	9
	2	0	0	2	4	6
GLAN.INT	1	15	14	13	10	10
	2	0	1	2	5	5
VELLOSI.	1	15	13	11	5	1
	2	0	2	4	10	14

Apreciamos una viabilidad del injerto en un 100% de las muestras a las 6 horas, disminuyendo al 86,66% a las 12 horas y al 73,33% a las 18 horas, para establecerse en un 60% a las 24 horas del comienzo de la preservación.

SOLUCION DE BELZER.- YEYUNO

		2 horas	6 horas	12 horas	18 horas	24 horas
M.EXTER	1	15	15	14	12	12
	2	0	0	1	3	3
M. INTER	1	15	15	14	10	10
_	2	0	0	1	5	5
SUBMUC	1	15	15	12	10	10
	2	0	0	3	5	5
M. MUCO	1	15	15	12	10	9
	2	0	0	3	5	6
GLAN.INT	1	15	13	11	10	8
	2	0	2	4	5	7
						i kanalan jabu
VELLOSI.	1	15	13	9	6	2
	2	0	2	6	9	13

Se refleja una viabilidad del injerto en un 100% de las muestras a las 6 horas, disminuyendo al 80% a las 12 horas y al 66,66% a las 18 horas, quedando a partir de las 24 horas en un 60% de las muestras que son viables.

SOLUCION DE BELZER.- ILEON

		2 horas	6 horas	12 horas	18 horas	24 horas
M.EXTER	1	- 15	15	14	12	12
	2	0	0	1	3	3
						ini bada balayin
M. INTER	1	15	15	14	10	8
	2	0	0	1	5	7
SUBMUC	1	15	15	14	8	5
	2	0	0	1	7	10
	+ 1.					
M. MUCO	1	15	14	12	6	3
	2	0	1	3	9	12
GLAN.INT	1	15	14	10	3	0
	2	0	1	5	12	15
VELLOSI.	1	15	14	8	2	0
	2	0	1	7	13	15

Apreciamos una viabilidad del injerto en un 100% de las muestras a las dos horas, disminuyendo al 93,33% a las 6 horas y al 80% a las 12 horas, bajando al 40% a las 18 horas y quedando un 20% de las muestra en condiciones de viabilidad a las 24 horas.

Se muestran los resultados obtenidos globalmente en toda la porción intestinal, sin tener en cuenta los diversos segmentos, lo cual nos da una visión conjunta del intestino delgado.

SOLUCION DE RINGER LACTATO.- INTESTINO DELGADO

		2 horas	6 horas	12 horas	18 horas	24 horas
M.EXTER	1	45	45	32	24	10
	2	0	0	13	21	35
M. INTER	1	45	26	10	2	1
	2	0	19	35	43	44
SUBMUC	1	45	21	9	1	0
	2	0_	24	36	44	45
M. MUCO	1	45	19	6	0	0
	2	0	26	39	45	45
5.5						
GLAN.INT	1	45	12	0	0	0
	2	0	33	45	45	45
VELLOSI.	1	45	10	0	0	0
	2	0	40	45	45	45

SOLUCION DE COLLINS.- INTESTINO DELGADO

		2 horas	6 horas	12 horas	18 horas	24 horas
M.EXTER	1	45	45	44	39	37
	2	0	0	1	6	8
M. INTER	1	45	45	41	34	32
	2	0	0	4	11	13
SUBMUC	1	45	44	38	33	30
	2	0	1	7	12	15
M. MUCO	1	45	44	36	32	27
	2	0	1	9	13	18
GLAN.INT	1	45	44	32	26	17
	2	0	1	13	19	28
VELLOSI.	1	45	42	28	23	11
	2	0	3	17	22	34

SOLUCION DE BELZER.- INTESTINO DELGADO

	61,13,351 37,46,45 8, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1,	2 horas	6 horas	12 horas	18 horas	24 horas
M.EXTER	1	45	45	42	37	37
	2	0	0	3	8	8
M. INTER	1	45	45	42	33	32
	2	0	0	3	12	13
SUBMUC	1	45	45	38	30	27
	2	0	0	7	15	18
M. MUCO	1	45	44	37	27	21
	2	0	1	8	18	24
GLAN.INT	1	45	41	34	23	18
	2	0	4	11	22	27
VELLOSI.	1	45	40	28 .	13	3
	2	0	5	17	32	42

Por último, se presentan los resultados obtenidos por segmentos y capas intestinales a las 24 horas de preservación y expresada la viabilidad de las muestras en tanto por ciento.

-DUODENO-

MUSCULAR EXTERNA

Solución	Total	-1-	-2-	% -1-
RINGER LACT.	15	4	11	26,67
COLLINS	15	13	2	86,67
BELZER	15	13	2	86,67

MUSCULAR INTERNA

Solución	Total	-1-	-2-	% -1-
RINGER LACT.	15	0	15	0,00
COLLINS	15	12	3	80,00
BELZER	15	13	2	86,67

SUBMUCOSA

Solución	Total	-1-	-2-	% -1-
RINGER LACT.	15	0	15	0,00
COLLINS	15	11	4	73,33
BELZER	15	11	4	73,33

MUSCU. MUCOSAE

Solución	Total	-1-	-2-	<u>% -1-</u>
RINGER LACT.	15	0	15	0,00
COLLINS	15	10	5	66,67
BELZER	15	9	6	60,00

GLANDULA INTEST.

Solución	Total	-1-	-2-	% -1-
RINGER LACT.	15	0	15	0,00
COLLINS	15	9	6	60,00
BELZER	15	10	5	66,67

VELLOSIDADES

Solución	Total	-1-	2-	<u>% -1-</u>
RINGER LACT.	15	0	15	0,00
COLLINS	15	7	8	46,67
BELZER	15	1	· 14	6,67

-YEYUNO-

MUSCULAR EXTERNA

Solución	Total	-1-	-2-	% -1-
RINGER LACT.	15	3	12	20,00
COLLINS	15	11	4	73,33
BELZER	15	12	3	80,00

MUSCULAR INTERNA

Solución	Total	-1-	-2-	% -1-
RINGER LACT.	15	0	15	0,00
COLLINS	15	11	4	73,33
BELZER	15	10	5	66,67

SUBMUCOSA

Solución	Total	-1-	-2-	% -1-
RINGER LACT.	15	0	15	0,00
COLLINS	15	10	5	66,67
BELZER	15	10	5	66,67

MUSCU. MUCOSAE

Solución	Total	-1-	-2-	% -1-
RINGER LACT.	15	0	15	0,00
COLLINS	15	10	5	66,67
BELZER	15	9	6	60,00

GLANDULA INTEST.

Solución	Total	-1-	-2-	% -1-
RINGER LACT.	15	0	15	0,00
COLLINS	15	6	9	40,00
BELZER	15	8	7	53,33

VELLOSIDADES

Solución	Total	-1-	-2-	% -1-
RINGER LACT.	15	0	15	0,00
COLLINS	15	4	11	26,67
BELZER	15	2	13	13,33

-ILEON-

MUSCULAR EXTERNA

Solución	Total	-1-	-2-	% -1-
RINGER LACT.	15	3	12	20,00
COLLINS	15	13	2	86,67
BELZER	15	12	3	80,00

MUSCULAR INTERNA

Solución	Total	-1-	-2-	% -1-
RINGER LACT.	15	1	14	6.67
COLLINS	15	9	6	60,00
BELZER	15	8	7	53,33

SUBMUCOSA

Solución	Total	-1-	-2-	% -1-
RINGER LACT.	15	0	15	0,00
COLLINS	15	9	6	60,00
BELZER	15	5	10	33,33

MUSCU. MUCOSAE

Solución	Total	-1-	-2-	% -1-
RINGER LACT.	15	0	15	0,00
COLLINS	15	7	8	46,67
BELZER	15	3	12	20,00

GLANDULA INTEST.

Solución	Total	-1-	-2-	% -1-
RINGER LACT.	15	0	15	0,00
COLLINS	15	2	13	13,33
BELZER	15	0	15	0,00

VELLOSIDADES

Solución	Total	-1-	-2-	% -1-
RINGER LACT.	15	0	15	0,00
COLLINS	15	0	15	0,00
BELZER	15	0	15	0,00

2.- Análisis estadístico bivariante.-

- PRESERVACION SEGUN SOLUCION UTILIZADA -

Análisis de supervivencia para TIEMPO Factor GRUPO = RINGER LACTATO Tiempo supervivencia 95% Intervalo confianza Media: 11 10; 12 Mediana 6 Análisis de supervivencia para TIEMPO Factor GRUPO = COLLINS 95% Intervalo confianza Tiempo supervivencia Media: 21 20; 21 Mediana: Análisis de supervivencia para TIEMPO Factor GRUPO = BELZER Tiempo supervivencia 95% Intervalo confianza Media: 20; 21) Mediana:

Análisis de	supervivencia para	TIEMPO			
	•	Total	N°	N°	%
			Inviables	Viables	Viables
GRUPO	RINGER	270	259	11	4,07
GRUPO	COLLINS	270	116	154	57,04
GRUPO	BELZER	270	134	136	50,37
Total		810	509	301	37,16

Tests estadísticos para igualdad de las distribuciones de supervivencia para GRUPO

	Estadístico	GL	p	
Log Rank	407,36	2	,0000	
Breslow	417,08	2	,0000	
Tarone-Ware	416,05	2	,0000	

Existe diferencia significativa entre la distribución del tiempo de preservación según las soluciones empleadas, como se observa a partir de los intervalos de confianza de las distribuciones, siendo la solución de Ringer Lactato la que menos tiempo protege el injerto con una significación de p < 0,0001.

- PRESERVACION SEGUN SEGMENTO INTESTINAL -

Análisis de supervivencia para TIEMPO

Factor SEGMENTO = DUODENO

	Tiempo supervivencia	95%	Interval	o confi	anza
Media:	18	(17,	19)
Mediana:	18	()

Análisis de supervivencia para TIEMPO

Factor SEGMENTO = YEYUNO

	Tiempo supervivencia	95%	Interval	o confi	anza
Media:	17	(17;	18)
Mediana:	18	(15;	21)

Análisis de supervivencia para TIEMPO

Factor SEGMENTO = ILEON

	Tiempo supervivencia	95%	6 Interva	lo conf	ianza
Media:	17	(16;	18)
Mediana:	18	(16;	20)

Análisis de si	upervivencia para	ТІЕМРО			
		Total	N°	N°	%
			Inviables	Viables	Viables
SEGMENTO	DUODENO	270	147	123	45,56
SEGMENTO	YEYUNO	270	164	106	39,26
SEGMENTO	ILEON	270	198	72	26,67
Total		810	509	301	37,16

Tests estadísticos para igualdad de las distribuciones de supervivencia para SEGMENTO

	Estadístico	GL	p	
Log Rank	13,58	2	,0011	
Breslow	6,93	2	,0313	
Tarone-Ware	9,88	2	,0072	

El porcentaje de muestras viables tras su preservación es menor en íleon, aunque los intervalos de confianza de los tiempos son muy semejantes.

- PRESERVACION SEGUN CAPA DEL INTESTINO DELGADO -

Análisis de s	supervivencia para TIEMPO				
Factor CAP	A = MUSCULAR EXTERNA				
	Tiempo supervivencia	95%	interva	lo conf	fianza
Media:	22	(21;	22)
Mediana:		ì	,		í
TVICOMIN.					,
Análisis de s	supervivencia para TIEMPO	·			
Factor CAP	A = MUSCULAR INTERNA				
	Tiempo supervivencia	95%	i Interva	lo conf	ianza
Media:	18	(17;	19)
Mediana:	24	Ì	ŕ)
			٠		
Análisis de s	supervivencia para TIEMPO				
Factor CAP	A = SUBMUCOSA				
	Tiempo supervivencia	95%	Interva	lo conf	ianza
Media:	18	(16;	19)
Mediana:	18	Ì	13;	23)
Análisis de s	upervivencia para TIEMPO				
Factor CAP	A = MUSCULARIS MUCOSAE				
	Tiempo supervivencia	95%	Interva	lo conf	ianza
Media:	17	(16;	18)
Mediana:	18	Ì	15;	21)
Análisis de s	upervivencia para TIEMPO		AT-C		
Factor CAP	A = GLANDULA INTESTINAL	,			
	Tiempo supervivencia	95%	Interva	lo conf	ianza
Media:	15	(14;	17)
Mediana:	12	ì	9;		j
		•	- ,		,

Análisis de supervivencia para TIEMPO

Factor CAPA = VELLOSIDADES

	Tiempo supervivencia	95%	Interval	o confi	anza
Media:	14	(13;	15)
Mediana:	12	(10;	14)

Análisis d	e supervivencia para TIEM	PO			
		Total	N° Inviables	N° Viables	% Viables
CAPA	MUSCULAR EXTERNA	135	51	84	62,22
CAPA	MUSCULAR INTERNA	135	71	64	47,41
CAPA	SUBMUCOSA	135	79	56	41,48
CAPA	MUSCU. MUCOSAE	135	87	48	35,56
CAPA	GLANDULA INTEST.	135	100	35	25,93
CAPA	VELLOSIDADES	135	121	14	10,37
Total		810	509	301	37,16

Tests estadísticos para igualdad de las distribuciones de supervivencia para capa

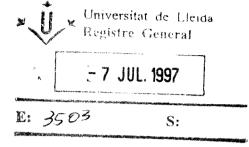
	Estadístico	GL	p	
Log Rank	106,71	5	,0000	
Breslow	104,26	5	,0000	
Tarone-Ware	106,23	5	,0000	

Existe una relación significativa entre la supervivencia del injerto y la profundidad de la capa de forma que, cuanto más cercana a la luz intestinal es la capa aumenta el grado de inviabilidad y disminuye el tiempo de preservación efectiva.

Man PART I

UNIVERSIDAD DE LLEIDA

FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

"MEDIOS DE PRESERVACIÓN EN EL TRANSPLANTE DE INTESTINO DELGADO. ESTUDIO EXPERIMENTAL EN LA RATA".



LUIS MANUEL MARCO ESTARREADO

LLEIDA 1997

3.- Análisis estadístico multivariente.-

ESTUDIO POR GRUPO Y CAPA		SEGMENTO: DUODENO
Análisis de	supervivencia para TIEMPO	
	USCULAR EXTERNA JPO = RINGER LACTATO	
	Tiempo supervivencia	95% Intervalo confianza
Media:	20	(17; 22)
Mediana:	18	(12; 24)
Análisis de	supervivencia para TIEMPO	
-	USCULAR EXTERNA JPO = COLLINS	
	Tiempo supervivencia	95% Intervalo confianza
Media:	23	(22; 24)
Mediana:		(
Análisis de	supervivencia para TIEMPO	
	USCULAR EXTERNA JPO = BELZER	
Media: Mediana:	Tiempo supervivencia 23	95% Intervalo confianza (21; 24) ()
Análisis de s	supervivencia para TIEMPO	
	USCULAR INTERNA IPO = RINGER LACTATO	
	Tiempo supervivencia	95% Intervalo confianza
Media:	10	(8; 13)
Mediana:	12	(

Análisis de supervivencia para TIEMPO	
CAPA = MUSCULAR INTERNA Factor GRUPO = COLLINS	
Tiempo supervivencia Media: 22 Mediana:	95% Intervalo confianza (21; 24) ()
Análisis de supervivencia para TIEMPO	
CAPA = MUSCULAR INTERNA Factor GRUPO = BELZER	
Tiempo supervivencia Media: 23 Mediana:	95% Intervalo confianza (21; 24) ()
Análisis de supervivencia para TIEMPO	
CAPA = SUBMUCOSA Factor GRUPO = RINGER LACTATO	
Tiempo supervivencia Media: 10 Mediana: 6	95% Intervalo confianza (7; 12) ()
Análisis de supervivencia para TIEMPO	
CAPA = SUBMUCOSA Factor GRUPO = COLLINS	
Tiempo supervivencia Media: 22 Mediana:	95% Intervalo confianza (19; 24) ()
Análisis de supervivencia para TIEMPO	
CAPA = SUBMUCOSA Factor GRUPO = BELZER	
Tiempo supervivencia Media: 22 Mediana:	95% Intervalo confianza (19; 24) ()

Analisis de s	upervivencia para TIEMPO				
	USCULARIS MUCOSAE PO = RINGER LACTATO				
	Tiempo supervivencia	95%	Interva		ianza
Media: Mediana:	9 6	(7;	11)
Análisis de s	upervivencia para TIEMPO				
	USCULARIS MUCOSAE PO = COLLINS				
	Tiempo supervivencia	95%	Interva	lo conf	ianza
Media: Mediana:	21	(18;	23)
Análisis de s	upervivencia para TIEMPO		· —- ——		
	USCULARIS MUCOSAE PO = BELZER				
	Tiempo supervivencia	95%]	Interval	lo confi	ianza
Media: Mediana:	22	(19;	24)
Mediana:	22 upervivencia para TIEMPO	(19;	24))
Mediana: Análisis de se CAPA = GL		(19;	24)
Mediana: Análisis de se CAPA = GL	upervivencia para TIEMPO ANDULA INTESTINAL	95%]	19;	-)) ianza
Mediana: Análisis de se CAPA = GL	upervivencia para TIEMPO LANDULA INTESTINAL PO = RINGER LACTATO	95%] (·	-	ianza)
Mediana: Análisis de se CAPA = GL Factor GRU Media: Media: Mediana:	upervivencia para TIEMPO LANDULA INTESTINAL PO = RINGER LACTATO Tiempo supervivencia 8	95%] (Interval	o confi) danza)
Mediana: Análisis de su CAPA = GL Factor GRU Media: Mediana: Análisis de su CAPA = GL	upervivencia para TIEMPO LANDULA INTESTINAL PO = RINGER LACTATO Tiempo supervivencia 8 6	95%] ((Interval	o confi	ianza)
Mediana: Análisis de su CAPA = GL Factor GRU Media: Mediana: Análisis de su CAPA = GL Factor GRU Factor GRU	upervivencia para TIEMPO ANDULA INTESTINAL PO = RINGER LACTATO Tiempo supervivencia 8 6 upervivencia para TIEMPO ANDULA INTESTINAL PO = COLLINS Tiempo supervivencia	(Interval 6;	o confi)
Mediana: Análisis de su CAPA = GL Factor GRU Media: Mediana: Análisis de su CAPA = GL	upervivencia para TIEMPO ANDULA INTESTINAL PO = RINGER LACTATO Tiempo supervivencia 8 6 upervivencia para TIEMPO ANDULA INTESTINAL PO = COLLINS	(Interval 6;	o confi)

Análisis de s	supervivencia para TIEMPO	
	LANDULA INTESTINAL IPO = BELZER	
Media: Mediana: Análisis de s	Tiempo supervivencia 21 supervivencia para TIEMPO	95% Intervalo confianza (19; 23) ()
	ELLOSIDADES JPO = RINGER LACTATO	
Media: Mediana:	Tiempo supervivencia 7 6	95% Intervalo confianza (6; 8) ()
Análisis de s	supervivencia para TIEMPO	
	ELLOSIDADES PO = COLLINS	
Media: Mediana:	Tiempo supervivencia 19 24	95% Intervalo confianza (16; 23) ()
Análisis de s	upervivencia para TIEMPO	
	ELLOSIDADES PO = BELZER	
Media: Mediana:	Tiempo supervivencia 18 18	95% Intervalo confianza (14; 21) (14; 22)

Anális	is de superv	ivencia para TIEM	PO	-DUODEN	IO-	
			Total	N° Inviables	N° Viables	% Viables
CAPA	MU	SCULAR EXTERNA	45	15	30	66,67
	GRUPO	RINGER LACT.	15	11	4	26,67
	GRUPO	COLLINS	15	2	13	86,67
	GRUPO	BELZER	15	2	13	86,67
CAPA	MU	SCULAR INTERNA	45	20	25	55,56
	GRUPO	RINGER LACT.	15	15	0	0,00
	GRUPO	COLLINS	15	3	12	80,00
	GRUPO	BELZER	15	2	13	86,67
CAPA	SUI	BMUCOSA	45	23	22	48,89
	GRUPO	RINGER LACT.	15	15	0	0,00
	GRUPO	COLLINS	15	4	11	73,33
	GRUPO	BELZER	15	4	11	73,33
CAPA	MU	SCU. MUCOSAE	45	26	19	42,22
	GRUPO	RINGER LACT.	15	15	0	0,00
	GRUPO	COLLINS	15	5	10	66,67
	GRUPO	BELZER	15	6	9	60,00
CAPA	GL	ANDULA INTEST.	45	26	19	42,22
	GRUPO	RINGER LACT.	15	15	0	0,00
	GRUPO	COLLINS	15	6	9	60,00
	GRUPO	BELZER	15	5	10	66,67
CAPA	VEI	LLOSIDADES	45	37	8	17,78
	GRUPO	RINGER LACT.	15	15	0	0,00
	GRUPO	COLLINS	15	8	7	46,67
	GRUPO	BELZER	15	14	1 .	6,67
Total			270	147	123	45,46

Estadístico Log Rank y (p)

Para CAPA = MUSCULAR EXTERNA

Factor RINGER LACTATO

1,00

COLLINS

10,80 (0,0010)

BELZER

9,94 (0,0016) 0,00 (0,9576)

Estadístico Log Rank y (p) Para CAPA = MUSCULAR INTERNA	••••••	
Factor RINGER LACTATO	1,00	
COLLINS	24,38 (0,0000)	
BELZER	26,04 (0,0000)	0,21 (0,6449)
;		
Estadístico Log Rank y (p) Para CAPA = SUBMUCOSA		
Factor RINGER LACTATO	1,00	
COLLINS	22,02 (0,0000)	
BELZER	22,64 (0,0000)	0,00 (0,9892)
Estadístico Log Rank y (p) Para CAPA = MUSCULARIS MUCOSA	E	
Factor RINGER LACTATO	1,00	
COLLINS	21,46 (0,0000)	
BELZER	23,88 (0,0000)	0,06 (0,8110)
Estadístico Log Rank y (p) Para CAPA = GLANDULA INTESTINAI	L	
Factor RINGER LACTATO	1,00	
COLLINS	23,37 (0,0000)	
BELZER	26,90 (0,0000)	0,22 (0,6380)

Estadístico Log Rank y (p)
Para CAPA = VELLOSIDADES

Factor RINGER LACTATO

1,00

COLLINS

20,77 (0,0000)

BELZER

20,03 (0,0000)

3,63 (0,0566)

Estos resultados se reflejan en los siguientes gráficos, del 19 al 24, en el que se expresa la viabilidad de las diferentes capas del duodeno según las diferentes soluciones de preservación, Ringer Lactato, Collins y Belzer.

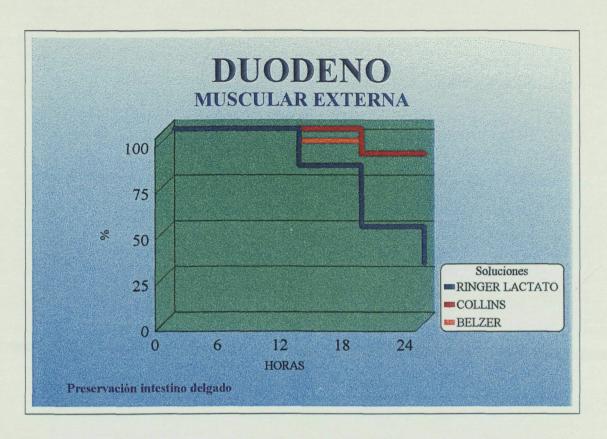
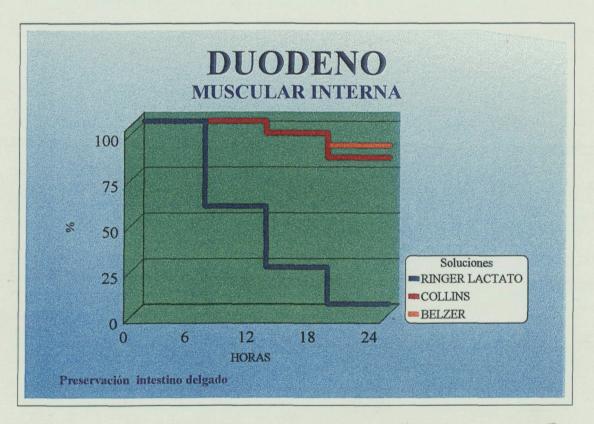


Gráfico 19



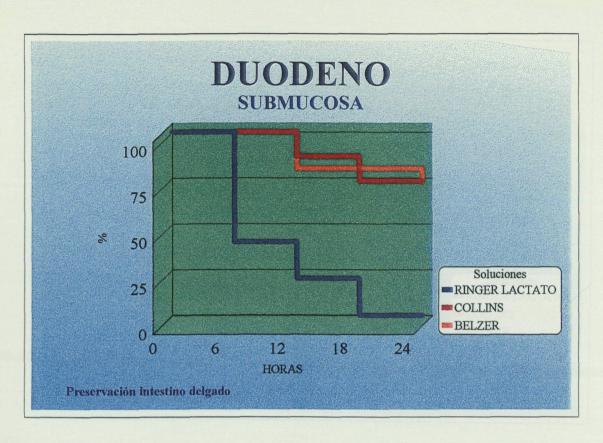
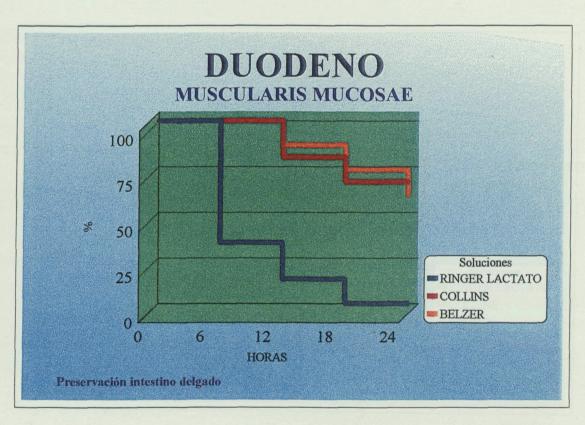


Gráfico 21



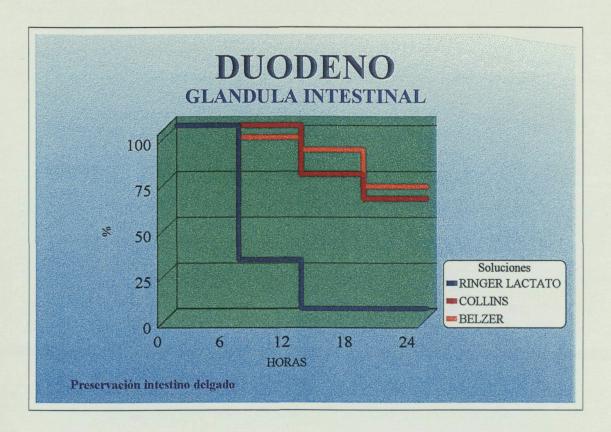
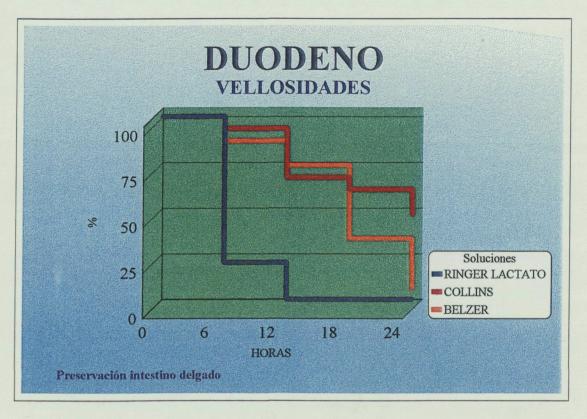


Gráfico 23



Análisis de s	supervivencia para TIEMPO	
	IUSCULAR EXTERNA JPO = RINGER LACTATO	
Media: Mediana:	Tiempo supervivencia 20 24	95% Intervalo confianza (17; 22) (19; 29)
Análisis de	supervivencia para TIEMPO	
	IUSCULAR EXTERNA JPO = COLLINS	
Media: Mediana:	Tiempo supervivencia 23	95% Intervalo confianza (22; 24) ()
Análisis de s	supervivencia para TIEMPO	
	TUSCULAR EXTERNA JPO = BELZER	
Media: Mediana:	Tiempo supervivencia 22	95% Intervalo confianza (21; 24) ()
Análisis de s	supervivencia para TIEMPO	
	USCULAR INTERNA PO = RINGER LACTATO	
Media: Mediana:	Tiempo supervivencia 10 12	95% Intervalo confianza . (8; 13) ()

Análisis de supervi	ivencia para TIEMPO	
CAPA = MUSCU Factor GRUPO =		
Tier Media: Mediana:	mpo supervivencia 22	95% Intervalo confianza (19; 24) ()
Análisis de supervi	ivencia para TIEMPO	
CAPA = MUSCU Factor GRUPO =		
Tier Media: Mediana:	mpo supervivencia 22	95% Intervalo confianza (20; 23) ()
Análisis de supervi	ivencia para TIEMPO	
CAPA = SUBMU Factor GRUPO =	ICOSA RINGER LACTATO	
Tier Media: Mediana:	mpo supervivencia 10 12	95% Intervalo confianza (8; 13) ()
Análisis de supervi	vencia para TIEMPO	
CAPA = SUBMU Factor GRUPO =		
Tier Media: Mediana:	npo supervivencia 21	95% Intervalo confianza (18; 24) ()
Análisis de supervi	vencia para TIEMPO	
CAPA = SUBMU Factor GRUPO =		
	npo supervivencia 21	95% Intervalo confianza (18; 23) ()

Análisis de super	vivencia para TIEMPO				
-	ULARIS MUCOSAE RINGER LACTATO				
Tio Media: Mediana:	empo supervivencia 10 12	95% I ((ntervale 8;	o confia	anza))
Análisis de super	vivencia para TIEMPO				
CAPA = MUSC Factor GRUPO =	ULARIS MUCOSAE = COLLINS				
Tie Media: Mediana:	empo supervivencia 22	95% I ((ntervalo		anza))
Análisis de superv	vivencia para TIEMPO			· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	
CAPA = MUSCO Factor GRUPO =	ULARIS MUCOSAE BELZER			x	
Tie Media: Mediana:	empo supervivencia 21	95% I ((ntervalo 18;	confia 23	nnza))
Análisis de superv	vivencia para TIEMPO		-		
	DULA INTESTINAL RINGER LACTATO				
Media: Mediana:	empo supervivencia 8 6 vivencia para TIEMPO	95% I ((ntervalo 6;		nza))
CAPA = GLANI Factor GRUPO =	OULA INTESTINAL COLLINS				
Tie Media: Mediana:	empo supervivencia 20 24	95% In ((ntervalo 18; 18;	confia 23 30	nza))

Análisis de supervivencia para TIEMPO CAPA = GLANDULA INTESTINAL Factor GRUPO = BELZER Tiempo supervivencia 95% Intervalo confianza Media: 16: 23 20 Mediana:) Análisis de supervivencia para TIEMPO CAPA = VELLOSIDADES Factor GRUPO = RINGER LACTATO 95% Intervalo confianza Tiempo supervivencia Media: 6; 6 Mediana:) Análisis de supervivencia para TIEMPO CAPA = VELLOSIDADES Factor GRUPO = COLLINS Tiempo supervivencia 95% Intervalo confianza Media: 19 16; 23 Mediana: 24 20; .28) Análisis de supervivencia para TIEMPO CAPA = VELLOSIDADES Factor GRUPO = BELZER Tiempo supervivencia 95% Intervalo confianza Media: 17 14; 21 Mediana: 18 11; 25

pervivencia para TIEMI	Total	-YEYUNO Nº	N°	%
			1.7	70
		Inviables	Viables	Viables
MUSCULAR EXTERNA	45	19	26	57,78
RINGER LACT.	15	12	3	20,00
COLLINS	15	4	11	73,33
BELZER	15	3	12	80,00
MUSCULAR INTERNA	45	24	21	46,67
RINGER LACT.	15	15	0	0,00
COLLINS	15	4	11	73,33
BELZER	15	5	10	66,67
SUBMUCOSA	45	25	20	44,44
RINGER LACT.	15	15	0	0,00
COLLINS	15		10	66,67
BELZER	15	5	10	66,67
MUSCU. MUCOSAE	45	26	19	42,22
RINGER LACT.	15		0	0,00
COLLINS	15			66,67
BELZER	15	6	9	60,00
GLANDULA INTEST.	45	31	14	31,11
RINGER LACT.	15	15	0	0,00
	15			40,00
BELZER	15	7	8	53,33
VELLOCIDADES	15	20	4	12.22
				13,33 0,00
			=	26,67
		-		13,33
BELZER	13	13		13,33
:	270	164	106	39,20
	COLLINS BELZER MUSCULAR INTERNA RINGER LACT. COLLINS BELZER SUBMUCOSA RINGER LACT. COLLINS BELZER MUSCU. MUCOSAE RINGER LACT. COLLINS BELZER GLANDULA INTEST. RINGER LACT. COLLINS BELZER VELLOSIDADES RINGER LACT. COLLINS BELZER	COLLINS 15 BELZER 15 MUSCULAR INTERNA 45 RINGER LACT. 15 COLLINS 15 BELZER 15 SUBMUCOSA 45 RINGER LACT. 15 COLLINS 15 BELZER 15 MUSCU. MUCOSAE 45 RINGER LACT. 15 COLLINS 15 BELZER 15 GLANDULA INTEST. 45 RINGER LACT. 15 COLLINS 15 BELZER 15 VELLOSIDADES 45 RINGER LACT. 15 COLLINS 15 BELZER 15	COLLINS 15 4 BELZER 15 3 MUSCULAR INTERNA 45 24 RINGER LACT. 15 15 COLLINS 15 4 BELZER 15 5 SUBMUCOSA 45 25 RINGER LACT. 15 15 COLLINS 15 5 BELZER 15 5 MUSCU. MUCOSAE 45 26 RINGER LACT. 15 15 COLLINS 15 5 BELZER 15 6 GLANDULA INTEST. 45 31 RINGER LACT. 15 15 COLLINS 15 9 BELZER 15 7 VELLOSIDADES 45 39 RINGER LACT. 15 15 COLLINS 15 9 BELZER 15 15 VELLOSIDADES 45 39 RINGER LACT. 15 15 COLLINS 15 15 COLLINS 15 15 BELZER 15 15	COLLINS 15

CAPA = MUSCULAR EXTERNA

Factor RINGER LACTATO 1,00

COLLINS 8,85 (0,0029)

BELZER 9,20 (0,0024) 0,09 (0,7587)

Estadístico Log Rank y (p) CAPA = MUSCULAR INTERNA		
Factor RINGER LACTATO	1,00	
COLLINS	21,30 (0,0000)	
BELZER	21,74 (0,0000)	0,08 (0,7783)
Estadístico Log Rank y (p) CAPA = SUBMUCOSA		
Factor RINGER LACTATO	1,00	
COLLINS	20,04 (0,0000)	
BELZER	18,63 (0,0000)	0,00 (0,9871)
Estadístico Log Rank y (p) CAPA = MUSCULARIS MUCOSAE		······································
Factor RINGER LACTATO	1,00	
COLLINS	22,43 (0,0000)	
BELZER	19,85 (0,0000)	0,17 (0,6808)
Estadístico Log Rank y (p)		
CAPA = GLANDULA INTESTINAL		
Factor RINGER LACTATO	1,00	
COLLINS	23,37 (0,0000)	
BELZER	18,98 (0,0000)	0,19 (0,6644)

Estadístico Log Rank y (p) CAPA = VELLOSIDADES

Factor RINGER LACTATO

1,00

COLLINS

20,77 (0,0000)

BELZER

17,40 (0,0000)

1,18 (0,2764)

Estos resultados se reflejan en los siguientes gráficos, del 25 al 30, en el que se expresa la viabilidad de las diferentes capas del yeyuno según las diferentes soluciones de preservación, Ringer Lactato, Collins y Belzer.

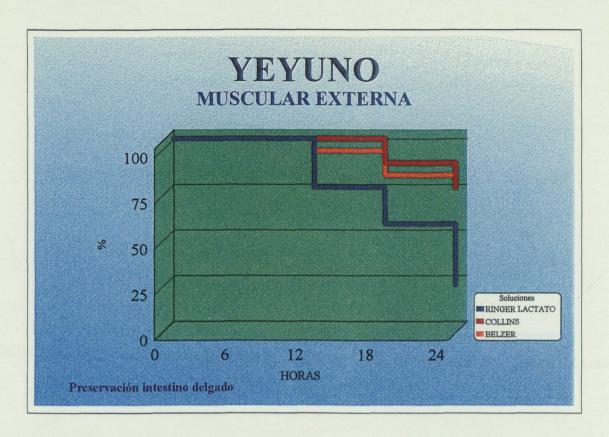
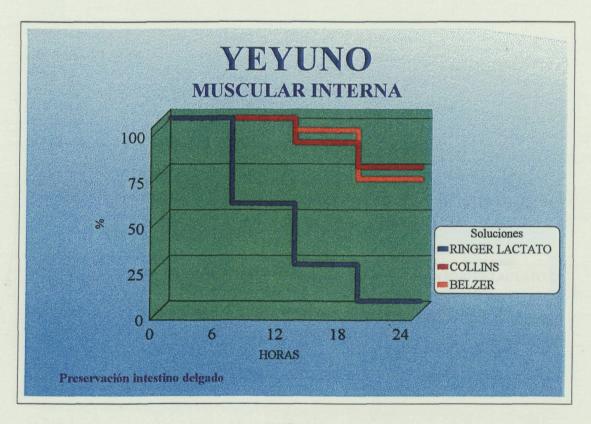


Gráfico 25



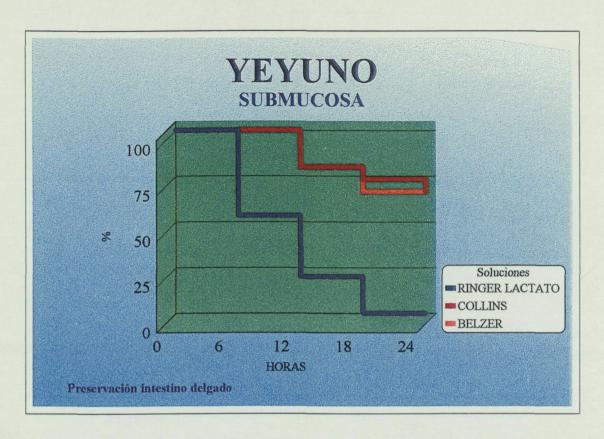
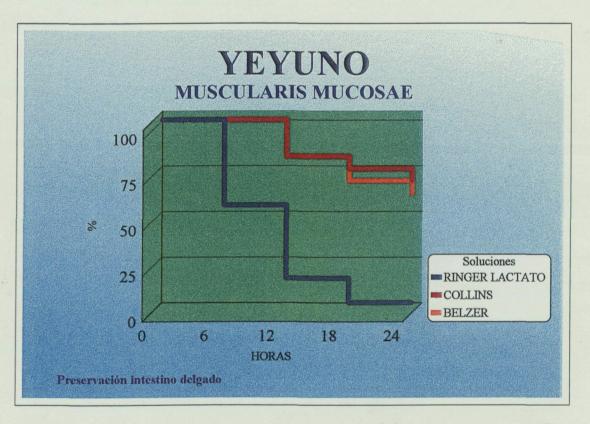


Gráfico 27



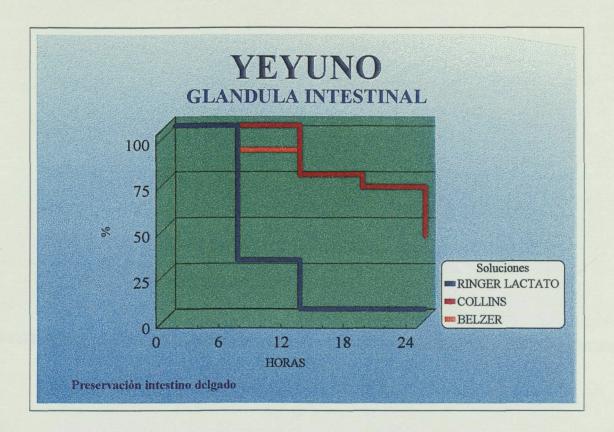
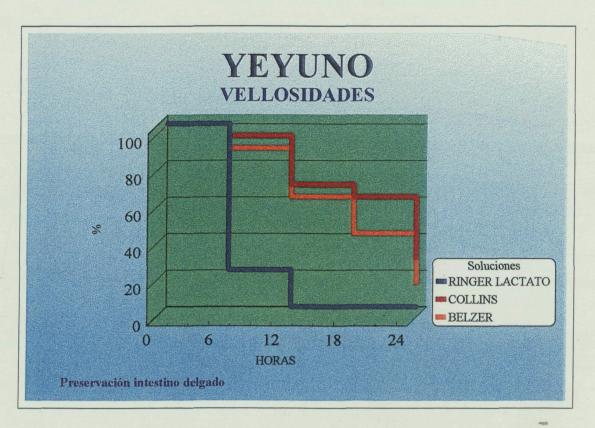


Gráfico 29



	supervivencia para TIEMPO USCULAR EXTERNA	
Factor GRU	PO = RINGER LACTATO	
Media: Mediana:	Tiempo supervivencia 19 24	95% Intervalo confianza (16; 22) (18; 30)
Análisis de s	supervivencia para TIEMPO	
	USCULAR EXTERNA PO = COLLINS	
Media: Mediana:	Tiempo supervivencia 23	95% Intervalo confianza (21; 24) ()
Análisis de s	supervivencia para TIEMPO	
	USCULAR EXTERNA PO = BELZER	
Media: Mediana:	Tiempo supervivencia 22	95% Intervalo confianza (21; 24) ()
Análisis de s	upervivencia para TIEMPO	
	USCULAR INTERNA PO = RINGER LACTATO	
Media: Mediana:	Tiempo supervivencia 12 12	95% Intervalo confianza (9; 16) (9; 15)

Análisis de s	supervivencia para TIEMPO	
	TUSCULAR INTERNA JPO = COLLINS	
Media: Mediana:	Tiempo supervivencia 22	95% Intervalo confianza (20; 24) ()
Análisis de	supervivencia para TIEMPO	
	IUSCULAR INTERNA JPO = BELZER	
Media: Mediana:	Tiempo supervivencia 22	95% Intervalo confianza (20; 24) ()
Análisis de s	supervivencia para TIEMPO	
	UBMUCOSA JPO = RINGER LACTATO	
Media: Mediana:	Tiempo supervivencia 10 6	95% Intervalo confianza (7; 13) ()
Análisis de s	supervivencia para TIEMPO	
	JBMUCOSA PO = COLLINS	
Media: Mediana:	Tiempo supervivencia 21	95% Intervalo confianza (18; 24) ()

Análisis de si	upervivencia para TIEMPO	
CAPA = SU Factor GRU	BMUCOSA PO = BELZER	
Media: Mediana:	Tiempo supervivencia 21 24	95% Intervalo confianza (19; 23) (19; 29)
Análisis de s	upervivencia para TIEMPO	
=	USCULARIS MUCOSAE PO = RINGER LACTATO	
Media: Mediana:	Tiempo supervivencia 9 6	95% Intervalo confianza (7; 11) ()
Análisis de si	upervivencia para TIEMPO	
	MUSCULARIS MUCOSAE PO = COLLINS	
Media: Mediana:	Tiempo supervivencia 20 24	95% Intervalo confianza (17; 23) ()
Análisis de su	pervivencia para TIEMPO	
	JSCULARIS MUCOSAE PO = BELZER	
Media: Mediana:	Tiempo supervivencia 19 18	95% Intervalo confianza (16; 22) . (14; 22)

Análisis de su	pervivencia para TIEMPO	
_	ANDULA INTESTINAL PO = RINGER LACTATO	
Media: Mediana:	Tiempo supervivencia 8 6	95% Intervalo confianza (6; 9) ()
Análisis de su	pervivencia para TIEMPO	
	ANDULA INTESTINAL PO = COLLINS	
Media: Mediana:	Tiempo supervivencia 18 18	95% Intervalo confianza (15; 22) (12; 24)
Análisis de su	pervivencia para TIEMPO	
	ANDULA INTESTINAL PO = BELZER	
Media: Mediana:	Tiempo supervivencia 17 18	95% Intervalo confianza (14; 19) (15; 21)
Análisis de su	pervivencia para TIEMPO	
	LLOSIDADES O = RINGER LACTATO	
Media: Mediana:	Tiempo supervivencia 8 6	95% Intervalo confianza (6; 9) ()

Análisis de supervivencia para TIEMPO CAPA = VELLOSIDADES Factor GRUPO = COLLINS Tiempo supervivencia 95% Intervalo confianza Media: 17 14; 20 Mediana: 18 13; 23) Análisis de supervivencia para TIEMPO CAPA = VELLOSIDADES Factor GRUPO = BELZER Tiempo supervivencia 95% Intervalo confianza Media: 18 16 13; 15; Mediana: 21 18)

Análisis de supervivencia para TIEMPO			-ILEON-		
	• •	Total	N°	N°	%
			Inviables	Viables	Viables
CAPA	MUSCULAR EXTERNA	45	17	28	62,22
GRUPO	RINGER LACT.	15	12	3	20,00
GRUPO	COLLINS	15	2	13	86,67
GRUPO	BELZER	15	3	12	80,00
CAPA	MUSCULAR INTERNA	45	27	18	40,00
GRUPO	RINGER LACT.	15	14	1	6.67
GRUPO	COLLINS	15	6	9	60,00
GRUPO	BELZER	15	7	8	53,33
CAPA	SUBMUCOSA	45	31	14	31,11
GRUPO	RINGER LACT.	15	15	0	0,00
GRUPO	COLLINS	15	6	9 ·	60,00
GRUPO	BELZER	15	10	5	33,33
CAPA	MUSCU. MUCOSAE	45	35	10	22,22
GRUPO	RINGER LACT.	15	15	0	0,00
GRUPO	COLLINS	15	8	7	46,67
GRUPO	BELZER	15	12	3	20,00
CAPA	GLANDULA INTEST.	45	43	2	4,44
GRUPO	RINGER LACT.	15	15	0	0,00
GRUPO	COLLINS	15	13	2	13,33
GRUPO	BELZER	15	15	0	0,00
CAPA	VELLOSIDADES	45	45	0	0,00
GRUPO	RINGER LACT.	15	15	0	0,00
GRUPO	COLLINS	15	15	0	0,00
GRUPO	BELZER	15	15	0	0,00
Total		270	198	72	26,67

Estadístico Log Rank y (p)

CAPA = MUSCULAR EXTERNA

Factor RINGER LACTATO

1,00

COLLINS

11,71 (0,0006)

BELZER

8,99 (0,0027) 0,21 (0,6449)

Estadístico Log Rank y (p) CAPA = MUSCULAR INTERNA		
Factor RINGER LACTATO	1,00	
COLLINS	15,28 (0,0001)	
BELZER	13,83 (0,0002)	0,13 (0,7168)
Estadístico Log Rank y (p) CAPA = SUBMUCOSA		
Factor RINGER LACTATO	1,00	
COLLINS	19,22 (0,0000)	
BELZER	17,31 (0,0000)	1,56 (0,2118)
		•
Estadístico Log Rank y (p) CAPA = MUSCULARIS MUCOSAE		
Factor RINGER LACTATO	1,00	
COLLINS	19,21 (0,0000)	
BELZER	16,04 (0,0001)	2,04 (0,1528)
Estadístico Log Rank y (p) CAPA = GLANDULA INTESTINAL		
Factor RINGER LACTATO	1,00	
COLLINS	19,50 (0,0000)	
BELZER	19,50 (0,0000)	1,85 (0,1737)

Estadístico Log Rank y (p) CAPA = VELLOSIDADES		
Factor RINGER LACTATO	1,00	
COLLINS	17,17 (0,0000)	
BELZER	17,17 (0,0000)	0,68 (0,4097)

Estos resultados se reflejan en los siguientes gráficos, del 32 al 38, en el que se expresa la viabilidad de las diferentes capas del íleon según las diferentes soluciones de preservación, Ringer Lactato, Collins y Belzer.

Las soluciones de Collins y de Belzer/UW son significativamente superiores, en cuanto a su capacidad para preservar el injerto, respecto a la solución de Ringer Lactato comparadas, siempre, para igual segmento y capa.

Son equivalentes entre si las de Collins y Belzer no encontrándose diferencia estadística entre las mismas.

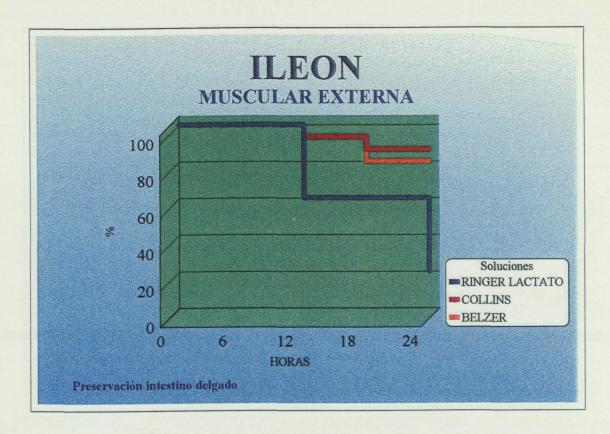
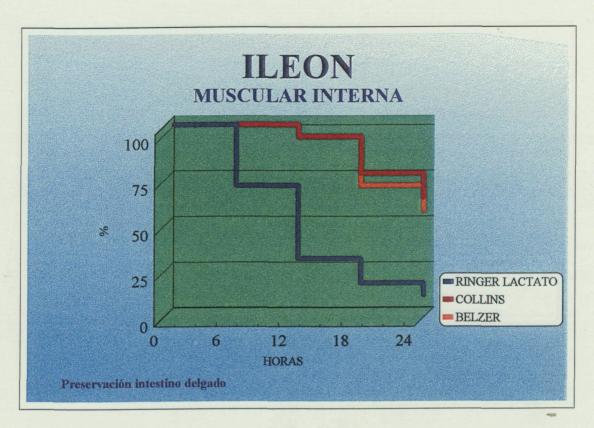


Gráfico 31



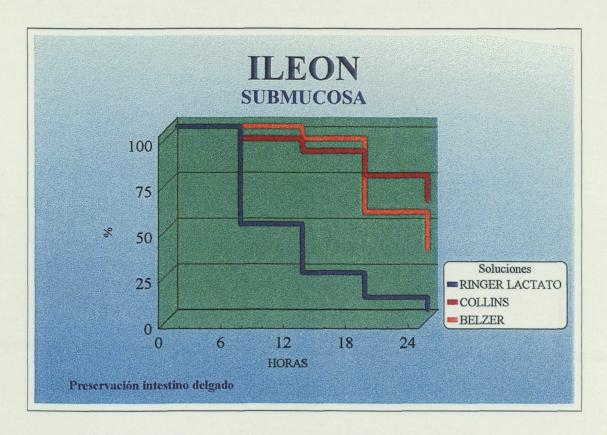
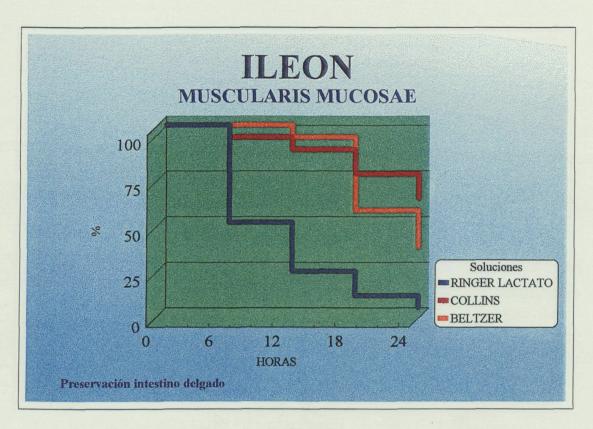


Gráfico 33



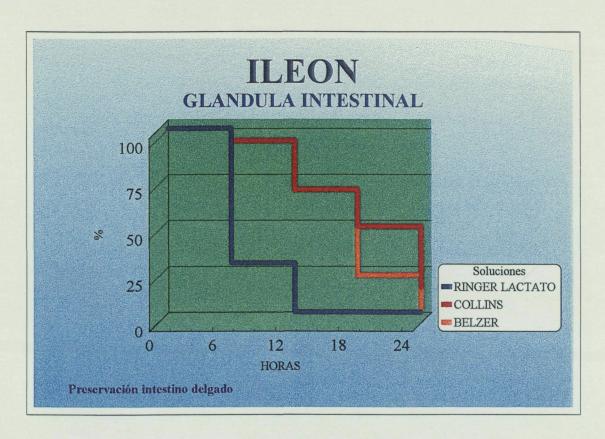
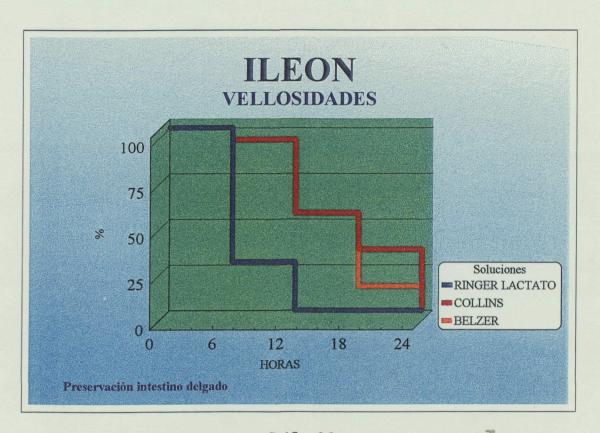


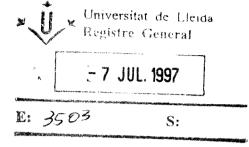
Gráfico 35



Man PART I

UNIVERSIDAD DE LLEIDA

FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

"MEDIOS DE PRESERVACIÓN EN EL TRANSPLANTE DE INTESTINO DELGADO. ESTUDIO EXPERIMENTAL EN LA RATA".



LUIS MANUEL MARCO ESTARREADO

LLEIDA 1997

Medios de preservación en el transplante de intestino delgado. Estudio experimental en la rata

DISCUSION

DISCUSION

El modelo experimental para el transplante experimental establecido por Monchick y Russel (6) en 1971 sigue vigente hoy en día si bien existen modificaciones técnicas que favorecen la extracción y posterior transplante, algunas como la de Sonnino (211) con anastómosis de la arteria mesentérica superior y vena mesentérica superior a la aorta y vena cava del receptor y otras como la de Pérez Ruiz, Marco y Xam-mar (50) en que anastomosa la vena porta a la vena renal derecha, con una anastómosis término-terminal más fácil que la término-lateral que es la porto-cava; no hay afectación de la función renal como demuestra en el citado trabajo y el de Marni y Ferrero(50, 215), así como también lo demuestran otras experiencias como la de Stoney (216) en que también liga la vena renal para realizar un shunt reno-esplénico para descomprimir la vena porta en el control de las hemorragias por varices esofágicas en la práctica clínica.

Estamos de acuerdo con Pegg (172) en que todos los métodos efectivos de preservación de órganos para transplante requieren una disminución de temperatura como principal elemento protector del órgano a transplantar. Esto se consigue manteniendo las soluciones de preservación a 4° C y una vez en el quirófano se mantiene esta temperatura introduciendo el recipiente con el injerto en otro recipiente de mayor volumen con hielo picado y después se introduce en un recipiente isotérmico y así poder

realizar el traslado en condiciones hipotérmicas adecuadas hasta poder depositar el injerto en un frigorífico o realizar el transplante.

Es necesario perfundir como dice Toledo-Pereyra (187), ya que si no se realiza se produce necrosis hemorrágica. Los mecanismos de perfusión pueden ser pulsátiles (217) o no pulsátiles que son los más habituales (16, 17, 18, 19). Es conveniente perfundir pues con las soluciones de preservación logramos prolongar el periodo de isquemia fría (229) sin alteraciones del injerto. Es importante, también, la heparinización para así disminuir el riesgo de trombosis en el transplante posterior (229). Aunque algunos autores realizan perfusion con oxígeno (177, 202), su uso no se ha generalizado por no obtener mejores resultados de forma concluyente. Al igual que otros autores (206, 208), nosotros hacemos la perfusión por elevación del sistema a 100 cm. por encima del plano vascular hasta comprobar por visualización directa de la transparencia de la vena porta que el efluente es totalmente claro sin restos de sangre, lo que se consigue en un plazo de pocos minutos.

Las soluciones de preservación más utilizadas son las que han sido objeto de este estudio, Ringer Lactato, Collins y Belzer o Wisconsin, si bien hay autores como Grant (34) que emplean como solución de preservación una asociación de manitol al 2,1 % y cloruro sódico al 0,9 % para perfusión y preservación del transplante conjunto de intestino delgado e hígado. También se ha experimentado añadir sustancias a estas soluciones con el fin

de aumentar su eficacia para favorecer la conservación y evitar el rechazo. Entre otras se ha probado clorpromazina (25, 27, 43, 45, 186, 187, 188), dimetilsulfóxido (219), metilprednisolona (185, 188, 189), globulina antilinfocítica (188), polietilenglicol (220) etc. siendo los resultados poco brillantes (170), no quedando ninguna de las sustancia probadas aceptada generalmente por el resto de la comunidad científica y no se utilizan de forma sistemática.

Es por ello que en este trabajo se han realizado las preservaciones con las soluciones conocidas de Ringer, Collins y Belzer sin ninguna sustancia más al no estar consolidada hoy en día su utilidad efectiva.

La mayor parte de las referencias bibliográficas existentes sobre preservación de órganos para transplante hacen referencia a órganos diferentes al intestino delgado y son el riñón, corazón, hígado, páncreas y pulmón, con las que se han realizado las diversas experiencias con las diferentes soluciones desde un primer momento. Así, la solución de Collins (178) fue utilizada en 1968 en riñón y la de Belzer (173) fue utilizada en 1986 en páncreas.

La preservación de intestino delgado, y su transplante, si bien es una linea de investigación actual, no ha adquirido el nivel desarrollado para otros órganos debido principalmente a su cómplejidad desde el punto de vista inmunógeno. La aparición de sustancias como el tacrolimus (16, 17, 18,19), con muy buenos resultados en estudios comparativos con la Cyclosporina A,

(19), impulsará el resto de investigaciones con modificaciones y soluciones tanto técnicas como de preservación.

En la práctica habitual no pasan más de 6 - 7 horas desde la extracción del transplante hasta su nueva colocación.

Grant y col (19) en una serie de 16 transplantes humanos la media del tiempo de preservación fue de 3,4 h. variando de 27' a 6 h. 50'.

El grupo de Pittsburg (42) obtiene una media de 6 a 8h en su serie siendo procesos breves relativamente ya que la mayoria de transplantes de intestino delgado en el humano se realizan en el mismo hospital en que se realiza la extracción por lo que el tiempo de preservación es relativamente corto.

Otro tema controvertido es el lavado de la luz intestinal existiendo disparidad de criterios, la mayoría de autores lo utilizan, pero algunos como Robinson (202), Frezza (43), Starzl (221), Schraut (222) no lo realizan sistemáticamente ya que alguna experiencia, como la de Jamieson(218) no ha mostrado ninguna ventaja con el mismo. Todo y Furukawa (16) no realizan limpieza con ningún líquido si el transplante es solo de intestino delgado pero, si incluye también colon irrigan la luz intestinal con Ringer Lactato frío conteniendo anfotericina B, aminoglucósidos y polymysina E.

Pensamos que es correcto realizar la limpieza de la luz intestinal ya que no hay estudios definitivos sobre este tema y la no contaminación de los

líquidos de perfusión que refieren estos autores sin hacer limpieza de la luz intestinal es, en principio, dudosa.

En este estudio se ha obtenido una diferencia significativa entre la solución de Ringer y las de Collins y Beltzer por un lado, y por otro, se constata significativamente que el intestino conservado con la solución de Ringer pierde su eficacia en el periodo de tiempo de 2 a 6 horas. Esto se opone a autores como Grant (146), que en cerdos, y, Dilliz-Pérez (151) y Toledo-Pereyra (217) en perros, utilizan Ringer Lactato como solución de preservación durante más de 6 horas y perfusión pulsátil con buenos resultados.

De acuerdo con nuestros resultados, Starzl (34) y Grant (35) al utilizar también Ringer Lactato en transplantes multiorgánicos, obtuvieron resultados en este estudio que hacen recomendable no utilizar esta solución en preservaciones de más de 2 horas estando de acuerdo con Toledo-Pereyra (217) que en trabajos más recientes no aconsejan una preservación mayor de 6 horas con esta solución.

Luther (223), en 1990, presenta mejores resultados en un estudio comparativo entre las soluciones de Ringer Lactato y Collins, realizado en perros y ratas con una preservación de 6 horas. Obtiene mejores resultados con Ringer Lactato, al que añadió un cultivo de células de Parker, que con el de Collins. Con esta última solución encuentra necrosis de las vellosidades, no especificando si es como resultado de la preservación, por

problemas técnicos quirúrgicos o problemas inmunológicos con rechazo o reacción de injerto contra huésped.

Rodríguez y Toledo-Pereyra (224), utilizan la solución de Ringer Lactato en preservación de intestino delgado en la rata durante 24 h., en un estudio comparativo con las soluciones de Collins y Belzer. Refiere obtener un 80% supervivencias con la solución de Ringer, un 46% con la solución de Collins y un 53% de Belzer, concluyendo en que ninguna solución de preservación disponible ofrece resultados consistentes en la actualidad.

Frezza (43), utiliza en transplante humano solución de Ringer o Collins, indistintamente, para la perfusión del injerto por obtener mejores resultados que con la solución de Belzer. No realiza, al igual que nosotros perfusión pulsátil ni limpia la luz intestinal basado en los resultados obtenidos por Jamieson (218) en que no encuentra contaminación del líquido de preservación.

Hoy día es incuestionable la superioridad como líquidos de preservación de las soluciones de Collins y Belzer sobre la de Ringer lactato de acuerdo con nuestros resultados, en que hemos obtenido una diferencia estadísticamente significativa (p < 0.0001).

La solución de Collins ha sido muy utilizada en preservación de órganos como riñón, páncreas, hígado y corazón (6, 179, 201), y supuso un enorme avance cualitativo su utilización a partir de 1969 (6).



En preservación de intestino delgado, Deltz (225), utilizó con éxito la solución de Collins en perfusión y limpieza de la luz intestinal con un tiempo de isquemia de 1 h 15'.

Hernández (170) realizó en perros un estudio de viabilidad de intestino con solución de Collins al que añade diversos fármacos vasoactivos encontrando mayor secreción intestinal, edema de la mucosa y desprendimiento del epitelio de las vellosidades en el grupo al que añadió fármacos vasodilatadores, glucagón y nitroprusiato sódico, que con el grupo al que añadió drogas vasoconstrictoras, dopamina y vasopresina a la solución de Collins. Este estudio es importante por presentar un estudio histológico comparativo en que se observan alteraciones similares a las encontradas por nosotros y junto al de Sonnino (171), poder establecer unos criterios histológicos para valorar la evolución del injerto intestinal. Realiza una valoración histológica del intestino delgado por microscopio de luz y establece 35 criterios y asigna el valor 0 cuando no hay fallos y 1 si hay hallazgos anormales. La tabla de criterios se encuentra en el apartado 1.5 de este trabajo.

Ploeg (226) realizó un estudio comparativo de la solución de Collins con la de Beltzer en riñones, páncreas e hígado de perro y concluye que con que la solución de Belzer es más efectiva que la de Collins y que es una solución efectiva para la preservación de órganos intraabdominales.

Ontell (227) en su estudio experimental en ratas sobre preservación de hígado obtuvo mejores resultados con la solución de Belzer que con la de Collins ya que los hígados preservados no aumentaron tanto de peso y encontró un mejor funcionamiento hepático con una mayor secreción de bilis.

Jamieson (218), en perros, utilizó la solución de Belzer en la preservación de hígado durante un tiempo de 24 a 48 horas, refiriendo haber obtenido buenos resultados con esta solución, no refiriendo ninguna comparación con otro medio.

Moer y Belzer en 1989 (21a), preservan hígado, riñón y páncreas con la solución de Belzer aumentando el contenido de sodio y disminuyendo el de potasio con lo que obtiene una disminución de la lesión del endoltelio, no provoca parada cardiorespiratoria principalmente en casos de multitransplantes al disminuir la concentración de potasio y no afecta la elevada concentración de K del receptor. La cantidad de sodio o potasio no afecta a la preservación pero sí que puede interferir en el desarrollo posterior de implantación del injerto y fase posttransplante inmediata.

Momii y col (199) compararon las soluciones de Collins y de Beltzer en el transplante de hígado en la rata obteniendo mejores resultados con la solución de Belzer que con la de Collins. Los parámetros utilizados fueron el peso del hígado y el estudio de las alteraciones a nivel del hepatocito. Comprobaron un mayor peso hepático y más alteraciones a nivel

del hepatocito en el grupo que habían realizado la preservación con la solución de Collins.

En 1992 Reckendorfer (228), realizó un estudio comparativo en intestino de rata en que la solución de Collins era superior a la de Belzer en preservaciones superiores a las 20 horas. Extraen 5 cm. de intestino delgado del segmento ileal al lado de la válvula ileocecal, los lavan, perfunden con suero salino frío y los introducen en las soluciones de preservación. Después hacen la valoración midiendo por cromatografía los niveles de fosfatos y monitorizando también el lactato que es un factor mesurable de la glicolisis anaerobia.

También en 1992, Schweizer (229) obtuvo mejores resultados con la solución de Belzer que con la de Collins en un estudio sobre transplante intestinal en ratas Lewis con toma de muestras a los 30°, 5, 8 y 10 horas y con diferentes soluciones: salina al 0,9%, Collins, Belzer y solución de St Thomas. Estudió 6 animales en cada grupo y realizó una evaluación microscópica sin definir los criterios. A los 30° sobrevivían todos los grupos, a las 5 horas solo los perfundidos con solución salina y Belzer estaban sin alteraciones al 100%, Collins en 68%, St Thomas en 33%. A las 8 horas solo estaban en buenas condiciones el 50% del grupo de Belzer y de la solución salina y a las 10 horas sobrevivían el 50% de la solución salina y el 16% del grupo de Belzer. Encontró lesiones importantes a nivel del epitelio y destrucción de la porción apical de las vellosidades después de la

revascularización quedando un edema a los 21 dias pero con una función intestinal normal y piensa junto a Raju (192) que la preservación de intestino está afectada por la gran sensibilidad a la isquemia pero, en contrapartida existe una gran capacidad de regeneración que lo hace morfológica y funcionalmente normal. Nuestros resultados favorecen a las soluciones de Collins y de Belzer y muestra una peor preservación el Ringer Lactato.

Starzl (221), empleó la solución de Belzer para transplante intestinal con preservaciones de una duració mayor de 6 h., sin realizar lavado intestinal al no tener ninguna ventaja según sus experiencias. Obtiene mejores resultados con la solución de Belzer frente a la de Collins y se basa en supervivencia posttransplante. Nosotros hemos obtenido unos resultados si no iguales, no significativos por lo que no se puede hacer conjeturas a cerca del empleo de una u otra solución

Itasaka (220) realiza un estudio comparativo entre la solución de Ringer Lactato y la solución de Belzer a la que añade polietilenglicol con diferentes configuraciones moleculares. Obtiene mejores resultados con el líquido de Belzer que con el Ringer y dentro del grupo de polietilenglicol más solución de Belzer, mejores resultados con el polietilenglicol de mayor peso molecular. El polietilenglicol no influye en la preservación de intestino, pero si que influye en la inmunogeneicidad del injerto al disminuir ésta, ya que disminuye la incidencia del rechazo en el transplante

experimental; probablemente sea por el elevado peso molecular del polietilenglicol.

Asfar y cols(19) refieren 16 transplantes entre Febrero del 88 y Mayo del 95 en el que solo utilizaron Ringer Lactato a temperatura ambiente como medio de perfusión en la intervención al transplantado, previamente almacenado en Belzer a 4°C con una media de 3,4 h., de 27' a 6 h. 50' y la isquemia caliente fue de 44' de 30 a 60'. Aunque todos los injertos presentaron normalmente criterios de viabilidad los que se trataron con ciclosporina A, murieron y los que se trataron con FK-506 sobrevivieron.

De Oca (230) y cols publican un estudio basado en la traslocación bacteriana y compara Ringer con Belzer sin obtener diferencias si bien los periodos de isquemia fueron cortos, de 40'.

Los estudios realizados sobre alteraciones histológicas en el transplante de intestino delgado son escasos (171, 229). La capacidad de restablecimiento funcional es notoria, una vez restablecidas las lesiones hísticas, por la gran capacidad de regeneración que tiene el intestino delgado (192). Guttman en 1966, (184), después de congelar intestino delgado comprobó la capacidad de regeneración que tiene este órgano.

En el estudio comparativo realizado en nuestro trabajo no se ha encontrado una diferencia estadística significativa entre los resultados obtenidos con las soluciones de Collins y de Belzer. Solo hemos hallado una

pequeña diferencia, no significativa, en las muestras obtenidas de íleon en que se aprecian más alteraciones con la solución de Belzer que con la de Collins. Los intervalos de confianza son muy semejantes y a pesar de no ser significativa esta diferencia, merecería un estudio posterior y comprobar si se corrobora o ha sido un hallazgo ocasional.

Hemos encontrado, con una diferencia significativa p < 0,001, una mayor afectación a nivel de la mucosa y posteriormente hacia capas más externas hasta la muscular en relación con el tiempo de preservación. A mayor tiempo transcurrido encontramos más alteraciones en las capas más próximas a la luz intestinal.

Se ha objetivado, así mismo, que las diferentes capas de un segmento intestinal evolucionan igual para cada solución determinada, hallando más alteraciones conforme aumenta el tiempo de preservación.

Teniendo en cuenta las condiciones de viabilidad basándonos en la conservación del epitelio de las criptas para valorar la viabilidad del segmento (186, 187, 164, 165, 170), se puede afirmar con los resultados de este estudio experimental que el intestino delgado mantenido en las soluciones de Collins o en la de Belzer puede ser transplantado hasta 24 horas después de su extracción con un elevado porcentaje de viabilidad, 73,3%.

Si el transplante es inmediato, con una duración de la preservación igual o menor a 2 horas, se puede utilizar como solución de perfusión, de limpieza de la luz intestinal y de preservación, la solución de Ringer Lactato.

El costo establecido actualmente de las soluciones de preservación que hemos utilizado es, todas ellas para una cantidad de 500 cc, de 259 pts. para la solución de Ringer, 3.600 pts para la solución de Collins y 8.000 pts. para la solución de Belzer, por la cual y al no tener diferencias significativas entre las soluciones de Collins y de Belzer proponemos la utilización habitual del líquido de Collins por su menor costo.

Medios de preservación en el transplante de intestino delgado. Estudio experimental en la rata

RESUMEN

RESUMEN

Se realiza un estudio de preservación de intestino delgado en ratas Sprague-Dawley con diferentes soluciones a 4° C de temperatura dentro del campo de transplante de intestino delgado.

Las soluciones de preservación empleadas han sido: Ringer Lactato, Collins y Belzer o solución de Wisconsin. El número de animales por grupo ha sido de 15, mediante procedimientos quirúrgicos y microquirúrgicos, se realiza perfusión de la arteria mesentérica hasta la vena porta con la solución empleada y se procede a la extracción del intestino delgado que se introduce hasta 24 horas en la solución de preservación correspondiente a 4°C. Se obtienen piezas de los segmentos duodenal, yeyunal e ileal a las 2, 6, 12, 18 y 24 horas. Se ha realizado limpieza de la luz intestinal en todos los casos con el líquido de perfusión.

Se han estudiado, microscópicamente, las alteraciones de las diferentes estructuras del intestino y se han obtenido los siguientes resultados:

Existen mayores alteraciones morfológicas en las capas internas del intestino en comparación con las más externas.

Si el tiempo de preservación es inferior a dos horas las tres soluciones obtienen similares resultados.

Cuando el tiempo de preservación es mayor a dos horas el Ringer Lactato es inferior a la solución de Collins y a la de Belzer, siendo los resultados de estas dos últimas similares en cuanto a la viabilidad del injerto.

Las soluciones de Collins y de Belzer pueden preservar el intestino delgado en condiciones de ser transplantado hasta 24 horas con una probabilidad del 73 % de ser viable.

En preservaciones inferiores a 2 horas se puede utilizar la solución de Ringer Lactato manteniendo la viabilidad del injerto.

Si el tiempo de preservación es mayor de 2 horas, se recomienda utilizar la solución de Collins por su menor coste económico en relación con la de Belzer.

Medios de preservación en el transplante de intestino delgado. Estudio experimental en la rata

CONCLUSIONES

-161-

CONCLUSIONES

- 1.- En la preservación del intestino delgado transplantado en ratas Sprague-Dawley los resultados obtenidos, en cuanto a viabilidad del injerto, con las soluciones de Collins y de Beltzer son superiores a los obtenidos con el Ringer Lactato.
- 2.- Estadísticamente, las soluciones de Collins y la de Belzer no presentan diferencias significativas en cuanto a la preservación del injerto intestinal.
- 3.- Todos los segmentos intestinales evolucionan de forma similar con las soluciones de Collins y de Belzer, aunque parece que en el íleon existe una mayor sensibilidad que podría ser objeto de futuras investigaciones.
- 4.- Existe mayor sensibilidad a las alteraciones morfológicas en las capas internas de intestino de acuerdo al tiempo de preservación, afectándose en primer lugar la mucosa y en último la capa muscular.
- 5.- Las diferentes capas de un segmento dado evolucionan igual para una solución determinada.
- 6.- El intestino delgado mantenido en la solucion de Collins o en la de Beltzer puede ser transplantado, con elevado porcentaje de viabilidad, hasta 24 horas después de la extracción.
- 7.- La solución de Ringer Lactato mantiene la viabilidad del injerto en un porcentaje elevado de casos cuando el tiempo de preservación es inferior a dos horas.
- 8.- A igualdad de resultados y dado su menor coste económico recomendamos utilizar la solución de Collins para preservar el intestino delgado desde su extracción hasta su reimplante.

Medios de preservación en el transplante de intestino delgado. Estudio experimental en la rata

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA.-

- 1.- CARREL, A.,"The surgery of blood vessels". John Hopkins Hospital Bulletin. 1907; 190: 18-28.
- 2.- LILLEHEI, RC., GOOT, B., MILLER, FA., "Homografts of the small bowel. Surg Forum". 1959; 10: 197-201.
- 3.- LILLEHEI, RC., GOOT, B., MILLER, FA. "The physiological response of the small bowel of the dog to isquemia including prolonged in vitro preservation of the bowel with successful replacament and survival". Ann Surg, 1959; 150: 543-560.
- GRADDOCK, GN., NORDGREN, SL., REZNICK, RK.. "Small bowel transplantation in the dog using Cyclosporine". Transplantation, 1983; 35: 284-288.
- 5.- LILLEHEI, RC., GOLDBEY, S., GOOT, B., LONGERBEAN, JK.. "The present status of intestinal transplantation". Am J Surg, 1963; 105:58-72.
- 6.- MONCHICK, GJ., RUSELL, PS. . "Transplantation of the small bowel in the rat, technical and inmunological considerations". Surgery, 1971; 70: 693-720.
- 7.- KORT, WJ., WESTBROEK, DL., McDIKEN, I., LAMIEJEN, LDF.. "Orthotopic total small bowel transplantation in the rat". Eur Surg Res, 1973; 5: 81-89.
- 8.- MENDEZ, J., GARCIA, I., ORTIZ, J.. "Use of splenic pedicle as a model of intestinal autotransplantation in the dog". Abstr. 27th Congress ESSR, Zaragoza. 1992.
- 9.- LEE, KW., SCHRAUT, WH.. "Small bowel transplantation in the rat, graft survival with heterotopic ws orthotopic position in Deltz, E., Thiede, A., Hamelman, H. eds small bowel transplantation, experimental and clinical fundamentals" Heildeberg. Springer-Verlag. 1985; 7-13.
- 10.- SCHRAUT, WH., ABRAHAM, V., LEE, KW.. "Portal versus systemic venous drenaige for small bowel allografts". Surgery, 1985; 98: 579-586.

- 11.- THIEDE, A., DELTZ, E.. "Morfological reaction in transplanted small intestine using inmunogenetically defined rat strain combinations". Langenbecks Arch Fur Chir, 1978; 346: 119-127.
- 12.- REZNICK, RK., GRADDOCK, GN., LANGER, B., GILAS, T., CULLEN, JB.. "Structure and function of small bowel allografts in the dog with Cyclosporine A inmunosuppression". Can J Surg, 1982; 25: 51-55.
- 13.- RICOUR, C., REVILLON, Y., ARNAUD-BATTANDIER, F., "Successful small bowel alografts in piglets using Cyclosporine A". Transplant. Proc., 1984; 15; 301-9.
- RUIZ, JO., UCHIDA, H., SCHULTZ, LS.. "Problems in absorption and inmunosuppression after entire intestinal allotransplantation. Am J Surg, 1972; 123: 304-310.
- MURASE, N., DEMETRIS, AJ., MATSUZAKY, T., YAGIHASHI, A., TODO,
 S., FUNG, J., STERZL, TE.. "Long survival in rats after multivisceral versus isolated small bowel allotransplantation under FK-506". Surgery, 1991; 110: 87-97.
- 16.- FURUKAWA, H., REYES, J., ABU-ELMAGD, K., TODO. S.. "Clinical Intestinal Transplantation. Review". Clinical Nutrition. 1996; 15: 45-52.
- 17.- ABU-ELMAGD, K., TODO, S., TZAKIS, A.G., REYES, J., NOUR, B., FURUKAWA, H., FUNG, J.J., DEMETRIS, A., STARZL, T.E.. "Three years clinical experience with intestinal transplantation". J Am Coll Surg. 1994; 179 (4): 385-400.
- 18.- TZAKIS, A.G., TODO, S., STARZL, T.E.. "Intestinal Transplantation". Annu Rev Med. 1994; 45: 79-91.
- ASFAR, S., ATKINSON, P., GHENT, C., DUFF, J., WALL, W., WILLIAMS, S., SEIDMAN, E., GRANT, D.. "Small bowel transplantation. A life-saving option for selected patients with intestinal falure". Digestive Diseases and Sciences. 1996; 41 (5): 875-883.
- 20.- REYES, J., TODO, S., STARZL, T.E.. "Liver and intestine transplantation". Immunology and allergy clinics of North America. 1996; 16 (2): 293-312.

- 21.- MEISER, BM., WANG, J., MORRIS, RE.. "Rapamycine: a new and highly active inmunosuppressive macrolide with and efficace superior to cyclosporine". In Melchers F. et al eds.. Progress in inmunology, vol.7. Heidelberg. Springer-Verlag, 1989; 1195-1199.
- 21a.- MOER, J., CLAESSON, K., PIENAAR, H., SOUTARD, J.A., BELZER, F.O.. "Preservation of a dog liver, kidney and pancreas using the Belzer-UW solution with a high-sodium and low-potassium content". Transplantation. 1989; 47 (6): 940-945.
- 22.- VREUGDENHIL, P., SOUTHARD, J.H., BELZER, F.O.. "Preservation of dog liver, kidney, and pancreas using the Belzer-UW solution with a high-sodium and low-potassium content". Transplantation. 1989; 47 (6): 940-945.
- 23.- DETERLING, R.. "Discusion of paper by Alican F, Hardy JD, Cayirli M et al. Intestinal transplantation: laboratory experience of a clinical case. Am J Surg. 1971; 121: 150.
- 24.- LILLEHEI, RC., IDEZUKI, Y., FEEMSTER, JA., DIETZMAN, RH., KELLY, WD., MERKEL, FK., GOETZ, FC., LYONS, GW., MANAX, WG.. "Transplantation of stomach, intestine and pancreas: experimental and clinical observations". Surgery. 1967; 62 (4): 721-741.
- 25.- OKUMURA, M., FUJIMARA, FERRARI, AA.. "Transplante de intestino delgado, a presentação de um caso". Rev Hosp Clin São Paulo. 1969; 24: 39.
- 26.- OLIVIER, CL., RETTORI, R., OLIVIER, CH.. "Homotransplantation orthotopique d'intestine grêle et des colons droit et transverse chez l'homme". J Chir. 1969; 98: 323.
- 27.- ALICAN, F., HARDI, JB., CRYOLI M.. "Intestinal transplantation, laboratory experience and report of a clinical case. Am J Surg. 1971; 121: 150.
- 28.- FORTNER, JG., SICHUK, G., LITWIN, SG.. "Inmunological responses to an intestinal allograft with HLA-identical donor recipient". Transplantation. 1972; 14:531-535.
- 29.- STARZL, TE., IWATSUKI, S., SCHAW, BW.. "Pancreaticoduodenal transplantation in humans". Surg Gynecol Obstet. 1984; 159: 265.

- 30.- COHEN, Z., SILVERMAN, R., LEVY, G., WASSEF, R., LANGER, B.. "Clinical small intestinal transplantation using ciclosporyne a and methylprednisolona". Transplant Proc. 1987: 19: 2588-2590.
- 31.- SCHRAUT, WH.. "Current status of small bowel transplantation". Gastroenterology. 1988; 94: 525-538.
- 32.-GRANT, D., SOMMERHAUER, J., MIMEAULT, R., GARCIA, B.. "Tractament with continuous hig-dose intravenous Cyclosporine following clinical intestinal transplantation". Transplantation. 1989; 48: 151-152.
- 33.-DELTZ, E., SCHROEDER, P., GUNDLACH, M., GEBHARDT, H.. "Successful clinical small bowel transplantation, report of a case". Transplantation. 1989; 3: 89-91.
- 34.- STARZL, TE., KAUPP, HA., BROCK DR., BUTZ, GW., LINMAN, JW.. "Homotransplantation of multiple abdominal organs". Am J Surg. 1962; 103: 219-229.
- 35.- GRANT, D., WALL, W., MIMEAULT, R., ZHONG, R., GHENT, C., GARCIA, B., STILLER, C., DUFF, J.. "Successful small bowel-liver transplantation". The Lancet. 1990; 335:181-184.
- 36.- STARZL, TE., ROWE, MI., TODO, S., JAFFE, R.. "Transplantation of multiple abdominal viscera". JAMA.1984; 261: 1449-1462.
- 37.- WILLIAMS, JW., SANKARY HN., FOSTER, PF., LOWE, J., GOLDMAN, GM.. "Splachnich transplantation, an approach to the infant dependent on parenteral nutrition who develops irreversible liver disease". JAMA. 1989; 261: 1458-1462.
- 38.- GOULET, O., REVILLON, E., JAN, D.. "Small bowel transplantation in children". Transplant Proc. 1990; 22: 2499-2500.
- 39.- SCHROEDER, TH., GOULET, O., LEAR, PA.. "Small bowel transplantation: European experience". Lancet. 1990; 336: 110-111.

- McALISTER, V., WALL, W., GHENT, R., ZHONG, R., DUFF, J., GRANT,
 D.. "Successful small intestine tranplantation". Transplant Proc. 1992; 24: 1236-1237.
- 41.- TODO, S., TZAKIS, A., ABU-ELMAGD, K., REYES, J., FUNG, JJ., CASAVILLA, A., NAKAMURA, K., YOGIHASHI, A., JAIN, A., MURASE, M., IWAKI, Y., DEMETRIS, AJ., VAN THIEL, D., STARZL, TE.. "Cadaveric small bowel and small bowel-liver transplantation in human". Transplantation. 1992; 2: 369-376.
- 42.- STARZL, TE., TODO, S., TZAKIS, A., ALESSIANI, M., CASAVILLA, A.. "
 The many faces of multivisceral transplantation". Surg Gynecol Obstet. 1991; 172:
 335-344.
- 43.- FREZZA, E.E., TZAKIS, A., FUNG, J.J., VAN THIEL, D.H.. "Small bowel transplantation: Current progress and clinical application". Hepato-Gastroenterology. 1996; 43: 363-376.
- 44.- BALEN, E., CIENFUEGOS, J.A., DE VILLA, V. H., TORRAMADE, J., REGUEIRA, F.M., DIEZ-CABALLERO, A., PARDO, F., HERNANDEZ-LIZOAIN, J.L.. "El transplante de intestino en 1994. Antecedentes histórico-experimentales e inmunología básica. Técnica quirúrgica y resultados clínicos". Rev Esp Enf Digest. 1994; 85 (6): 453-467..
- 45.-BROWNE, BJ., JHONSON, CP., EDMISTON, CE., HLAVA, MA., MOORE, GH., ROZA, AM., TELFORD, GL., ADAMS, MB.. "Small bowel transplantation promotes bacterial overgrowth and traslocation". J Surg Res. 1992; 51: 512-517.
- 46.- CHE, H., XU, D., QI, S., WU, J., LUO, H., DALOZE, P.. "Rapamycin graft pretreatamentin small bowel and kidney transplantation in the rat". Transplantation. 1995; 59 (8): 1084-1089.
- 47.- FORTNER, JG., SICHUK, G., LITWIN, SG.. "Inmunological responses to an intestinal allografth with HLA-identical donor recipient. Transplantation. 1972; 14: 531.
- 48.- ECK, NVK., VOPROSO, O., PREVYAZKIE, V.. "Ligature of the portal vein". Voen Med J St Petersburg. 1887; 130: 1-2.

- 49.- LEE, S., FISCHER, B.. "Portacaval shunt in the rat". Surgery. 1961; 50: 668-670.
- PEREZ RUIZ, L., MARCO ESTARREADO, L., XAM-MAR MANGRANE,
 R., "Anastomosis porto-renal en el transplante intestinal experimental". Cirugía Española. 1990; XLVIII, 2: 147-150.
- 51.- MASLAND, WS.. "Interrelations between diet and weight gain in rats with portacaval shunts". Am J Physiol. 1964; 206: 304-308.
- 52.- KYU, MH., CAVANAGH, JB.. "Some effects of portacaval anastomosis in the rat". Br J Exp Path. 1970; 51: 217-227.
- 53.- FISHER, B., LEE, SH., FISHER, ER., SAFFER, E.. "Liver regeneration following portacaval shunt". Surgery. 1962; 52: 88-102.
- 54.- HENZEL, J., TURCOTTE, JG., CHILD, CG.. "The response of normal rats to portacaval shunt". Arch Surg. 1963; 86: 184-190.
- 55.- ASSAL, JP., LEURAT, R., STAUFFACHER, W.. "Metabolic consequences of portal-cava shunthing in the rat, effectes on glucose tolerance an serum inmunoreactive insuline response". Metabolism. 1971; 20: 850.
- 56.- LAUTERBURG, BH., SAUTTER, V., PREISIG, R., BIRCHER, J.. "Hepatic functional deterioration after portacaval shunt in the rat". Gastroenterology. 1976; 221-227.
- 57.- STARZL, TE., LEE, IY., PORTER, KA., PUTNAM, CW.. "The influence of portal blood upon lipid metabolism in normal and diabetic dogs and baboons". Surg Gynecol Obstet. 1975; 140: 381-396.
- 58.- HALGRIMSON, CG., MARCHIORO, TL., FARIS, TD., PORTER, KA., PETERS, GN., STARZL, TE.. "Auxiliary liver transplantation: effect of host portacaval shunt". Arch Surg. 1966; 93: 107-118.
- 59.-KOLTUM, WA., MADARA, JL., SMITH, RJ., KIRKMAN, RL.. "Metabolic aspects of small bowel transplantation in inbred rats". J Surg Res. 1987; 42: 341-342.

- 60.- SHAFFER, D., DIFLO, T., LOVE, W., CLOWE, GHA., MAKI, T., MONACO, AP.. "Inmunologic and metabolic effects of caval vs. portal venous drenaige in small bowel transplantation". Transplant Proc. 1988; 104: 518-524.
- 61.- SCHRAUT, WH., ABRAHAM, VS., LEE, KKW.. "Portal versus caval venous drainage of small bowel, technical and metabolic consequences". Surgery.1986; 99: 193-198.
- 62.- HORAK, W., WALDRAM, R.. "Bile acid conjugation in fulminant hepatic failure" in Williams R, Murray-Lyon IM eds. Artificial liver support, Kent: Pitman Medical 1975. pp 283-285.
- 63.- SANKARY, HN., SARFEH, IJ., KULOVICH, S., LESLIE, S., MASON, GR.. "The source of hepatic bloodsupply influences plasma aminoacids patterns". Curr Surg. 1985; 42: 304-306.
- 64.- FISCHER, JE., FUROVICS, JM., AGUIRRE, A.. "The role of plasma aminoacids in hepatic encephalopaty". Surgery. 1975; 78: 276-290.
- 65.- KOLTUM, WA., KIRKMAN, RL.. "Nutritional and metabolic aspects of total small bowel transplantation in inbred rats". Transplant Proc. 1987; 19: 1120-1122.
- 66.- STARZ, TE., PORTER, KA., KASHIWAGI, N., PUTNAM, CW.. "Portal hepatotrofhic factors, diabetes mellitus and acute liver atrophy, hipertrophy and regeneration". Surg Gynecol Obstet. 1975; 141: 843-858.
- 67.- LIEHR, H., GRÜN, M., THIEL, H., BRUNSWIG, D., RASENACK, U.. "Endotoxin-induced liver necrosis and intravascular coagulation in rats enhanced by portacaval collateral circulation. Gut. 1975; 16: 429-436.
- 68.- ALDRETE, JS., McLRATH, DG., HALLENBECK, GA.. "Effect of portal ligation and of Eck's fistula on hepatic blood ammonic". Surg Forum. 1986; 17: 363-364.
- 69.- DEGOS, JD., CLOCHE, R., BISMUTH, H., BENHAMOU, JP.. "L'encephalopatie hepatique experimentale chez le rat, etude clinique et electorcorticographie". Rev Frac Etud Clin Biol. 1969; 14: 260-266.

- 70.- GRANGE, D., CHAUVAND, S., THANGAPREGASSAM, MJ., BISMUTH, H.. "Effects of colectomy on encephalopaty in rats with portocaval shunts". Surg Gynecol Obstet. 1974; 138: 537-541.
- 71.- CAVANAGH, JB., KYU, MH.. "Colchicine-like effects on astrocytes after portacaval shunt in rats". Lancet. 1969; 2: 620-622.
- 72.- DODSWORTH, JM., HOWARD-JONES, J., CUMMINGS, MC., FISCHER, JE.. "Deplection of brain norepinephrine in acute hepatic coma". Surgery. 1974; 75: 811-820.
- 73.- DORDAL, E., GLAGOV, S., DEBARROS, TS.. "Testicular atrophy in rats with portacaval anastomosis". Arch Path. 1967; 83: 49-52.
- 74.- FLYNN, PJ., KENNAN, AL.. "The rat with a portacaval anastomosis". Arch Path. 1968; 85: 138-148.
- 75.-OSCARSON, JEA., VEEN, HF., WILLIAMSON RCN., CHIR, B., MALT, RA.. "Compensatory postsecretional hyperplasia and starvation atrophy in small bowel: disociation from endogenous gastrin levels". Gastroenterology. 1977; 72: 890-895.
- 76.DEMBINSKI, AB., JOHNSON, LR.. "Role of gastrin in gastrointestinal adaptation after small bowel resection". Am J Physiol. 1982; 243: 616-620.
- 77.- GRIÑO, JM., MESTRE, M., BUENDIA, E.. "Monitorización inmunológica del transplante renal mediante el uso de anticuerpos monoclonales dirigidos contra las subpoblaciones linfocitarias". En Caralps A, Gil-Vernet JM, Vives, J y cols. eds. Transplante renal. Toray S.A.. 1983. 271-276.
- 78.- BOECKS, W., SOBIS, H., LACQUET, A., GRUWEZ, J., VANDEPUTTE, M.. "Prollongation of allogenic heart graft survival in the rat after implantation on portal vein". Tranplantation. 1975; 19: 145-149.
- 79.- SAKAI, A.. "Role of the liver in kidney allograft rejection in the rat". Transplantation. 1970; 9: 333-334.
- 80.- FUKUDA, A., HANAOKA, T., SOLOWAY, AC., RAPAPORT, FT.. "Inhibition of secondset allograft responsesby portal vein drainage". Transplant Oroc. 1969; 1: 602-604.

- 81.- TELFORD, GL., WELGENBACH-TELFORD, S., McMANUS, LL.. "Migrating myoelectric complexes in the rat ileal isografts are reduced in the fasted but not in the feed state". In press.
- 82.- DEWERER, I., EECKHOUT, C., VANTRAPPEN, G., HELLEMANS, J.. "Disruptive effect of test meals on interdigestive motor complex in dogs". Am J Physiol. 1989; 235: 661-665.
- 83.- BALLINGER, WF., CHRISTY, MG., ASHBY, WB.. "Autotransplantation of the small intestine: the effect of denervation". Surgery. 1960; 48: 571-575.
- 84.- BALLINGER, WF., IIDU, J., APONTE, GE., WIRTS, W., GOLDSTEIN, F.. "Structure and function of the canine small intestine following total abdominal vagotomy". Surg Gynecol Obstet. 1964; 118: 1305-1308.
- 85.- HARDY, MA., QUINT, J., STATE, D.. "Effect of antilymphocite serum and other inmunosuppressive agents on canine yeyunal allografts". Ann Surg. 1970; 171:51-60.
- 86.- STAMFORD, WP., HARDY, MA.. "Fatty acid absorptionin jejunal autograft and allograft". Surgery. 1974; 74: 496-502.
- 87.- TEGUCHI, T., ZORYCHTA, E., SONNINO, RE., GUTTMAN, FM.. "Function of smooth muscle and nerve after small intestinal transplantation in the rat: effect of storing donor bowel in Eurocollins". J Pedatr Surg. 1989; 24: 634-638.
- 88.- GOOT, B., LILLEHEI, RC., MILLER, F.. "Mesenteric lymphatic regeneration after autografts of small bowel in dogs". Surgery. 1960; 48: 571.
- 89.- KOCANDRLE, V., HOUTTIN, E., PROHASKA, JV.. "Regeneration of the lymphatics after autotransplantation and homotransplantation of the entire small intestine". Surg Gynecol Obstet. 1966; 122: 587.
- 90.- ROTMAN, N., MICHOT, F., HAY, JM., FAGUIEZ, PL.. Lymphatic regeneration following intestinal transplantation in the pig. In Deltz E, Thiede A, Hamelman H. eds. in: Small bowel transplantation: Experimental and clinical fundamentals. Springer-Verlag, Berlin, 1985; 34-36.

- 91.- ROGGIN, GM., BONWELL, JG., YARDLEY, JH., HENDRIX, TH.. "Unimpaired response of rabit jejunum to cholera toxin after selective damage to villous epithelium". Gastroenterology. 1972; 63: 981-989.
- 92.- SCHULTZ, SG.. Ion coupled transport across biological membranes. in: Audreoli TE, Hoffman JR, Fanestil DD. eds. Physiology of membrane disorders. New York, Plenum 1981, 273-286.
- 93.- SCHROEDER, P., SANDFORTH, F., GUNDLACH, M., DELTZ, E., THIEDE, A.. "Functional adaptation of small intestinal mucosa after syngeneic and allogeneic orthotopic small bowel transplantation". Transplant Proc. 1989; 21: 2887-2889.
- 94.- INGHAM-CLARK, CL., PRICE, BA., CRANE, PW., LEAR, PA., WOOD, RFM.. "Persistencia de células alogénicas en el injerto y en los tejidos del huésped tras el transplante de intestino delgado" Br J Surg (ed. española). 1992; 8: 102-105.
- 95.- THIEDE, A., DELTZ, E., SCHACK, T.. "Successful manipulation of graft vs. host reaction in semi allogenic intestinal transplantation in rats by treatament of the donor recipient (abstract). 7° Congreso Internacional de Microcirugia. Lyon. 1982.
- 96.- WATSON, AJM, LEAR, PA., MONTGOMORY, A., ELLIOT, E., DARRE, J., FARTHING, MJG., WOOD, RFM.. "Water, electrolyte, glucose and glycine absorption in rat small intestinal transplants". Gastroenterology. 1988; 94: 863-869.
- 97.- FORDTRAN, JS., SOERGEL, KH., INGELFINGER, FJ.. "Intestinal absorption of D-Xilose in man". N Eng J Med. 1962; 267-274.
- 98.- HATCHER, PA., DENTON, DH., BOLLINGER, RR.. "Transplantation of the entire small bowel in inbred rats using Cyclosporine". Transplantation. 1987; 43: 4.
- 99.- BILLIAR, TR., GARBEROGLIO, C., SCHRAUT, WH.. "Maltose absorption as an indicator of small intestinal allograft rejection. J Surg Res. 1984; 37: 75-82.
- 100.- JEIFERT, J., DELTZ, E.. "Experimental and clinical fundamentals of small bowel transplantation" in : Deltz E, Thiede A, Hamelman H. eds. Springer-Verlag, Heidelberg 1986; 29.

- 101.- McCORT, JM.. "Oxigen derived free radicals in past ischaemic tissue injury. N Eng J Med. 1985; 312: 159-163.
- 102.- MADARA, JL., KIRKMAN, RL.. "Structural and functional evolution of jejunal allografts rejection in rats and the ameliorating effects of Cyclosporine therapy". J Clin Invest. 1985; 75: 502-512.
- 103.- GUNDLACH, M., SCHROEDER, P., SCHINDLER, R., DELTZ, E.. "Absorption of vitamin A after orthotopic small bowel transplantation: Evidence for the development of graft adaptation to lipid metabolism". Transplant Proc. 1987; 19: 3965-3967.
- 104.- MacKENZIE, R., NORDGREN, S., LOSSING, A., GRADDOCK, G., COHEN, Z., STILLER, C., LANGER, B.. "Cyclosporine A: absorption in canine small intestinal transplantation". Transplant Proc. 1982; 14: 646-648.
- 105.- THOMPSON, JS., RASE, SG., SPARTE, AD., QUISLEY, EMM.. "The long term effect of jejunoileal autotransplantation on intestinal function". Surgery. 1992; 111: 62-68.
- 106.- KAGNOFF, MF.. Inmunology of the digestive system. in: Johnson LR. de. Physiology of the gastrointestinal tract. New York, Raven Press. 1981 pp. 1337-1359.
- 107.- HANAVER, SB., KRAFT, SC. in: Bockus, Gastroenterology tomo III, Salvat, 1987; 1779-1799.
- 108.- MAcDONALD, TT., CARTER, PB.. "Mouse Peyer's patches contains T-cells capable of inducing graft vs host reaction". Transplantation. 1978; 26: 440-451.
- 109.- OWEN, RL.. "Sequential uptake of horseradish peroxidase by lymphoid follicle epithelium of Peyer's patches in the normal unobstructed mouse intestine, an ultrastructural study". Gastroenterology. 1977; 22: 440-451.
- 110.- BELLAMY, JE., NIELSEN, NO.. "Inmune mediated emigration of neutrophils into the lumen of the small intestine". Infect Inmun. 1974; 9: 615-619.
- 111.- REYNOLDS, J.. "Gut associated lymphoid tissue in lambs before and afther birth". Monogr Allergy. 1980; 16: 187-202.

- 112.- MARSH, MN.. "Studies of intestinal lymphoid tissue, aspects of proliferation and of migration of epithelial lymphocytes in the small intestine of mice". Gut. 1975; 16: 674-682.
- 113.- PEARSON, LD., SIMPSON-MORGAN, MW., MORRIS, B.. "Lymphopoiesis and lymphocyte recirculation in the sheep fetus". J Exp Med. 1976; 143: 167-186.
- 114.- GOWANS, JL., KNIGHT, EJ.. "The route of recirculation of lymphocytes in the rat". Proc R Soc Lond (Biol). 1964; 159: 257-282.
- 115.- MONTGOMERY, PC., COHN, J., LALLY, ET.. "The induction and characterization of secretory Ig A antibodies. Adv Exp Med Biol. 1974; 45: 453-462.
- 116.- GÜNTHER, E., STARK, O.. "The major histocompatibility system of the rat". Transplant Proc. 1979; 11: 1550-1553.
- 117.- GILL, TJ.. "Report of the first international Workshop on alloantigenic systems in the rat". Transpant Proc. 1978; 10: 271-285.
- 118.- BILLINGHAM, RE., HODGE, BA., SILVERS, WK.. "An estimate number of histocompatibility loci in the rat". Proc Nas. 1962; 48: 138-147.
- 119.- SAAT, RE., DE BRUIN, RWF., HEINEMAN, E., MARQUET, RL., JEEKEL, J.. "Orthotopic small bowel transplantation in rats: pretreatament of the donor with the aim of ameliorating graft versus host disease". Transplant Proc. 1989; 21: 2892-2893.
- 120.- TELFORD, JL., CORRY, RJ.. "Inmunological enhancement of rat small intestine allografts. Arch. Surg. 1978; 113: 615-617.
- 121.- JERUSALEM, CR., JAP, PHK.. "General pathology of the transplantation reaction in experimental and clinical organ grafts". Handbuch der allgemeinen pathologie VI/8 Transplantation. de Masshoff. JW Berlin. Springer-verlag. 1977.
- 122.- SCHMID, TH., OBERHUBER, G., KOROZSI, G., KLIMA, G., MARGREITER, R.. "Histologic pattern of small bowel allograft rejection in the rat mucosal biopsies do not provide sufficient information". Gastroenterology. 1988; 96: 1529-1532.

- 123.- KIM, PCW., LEVY, GA., GRAIG, M., CULLEN, J., COHEN, Z.. "Characterization of inmune responses in different lymphoid compartments during small intestine allograft rejection". Am J Surg. 1990; 159: 161-166.
- 124.- TEITELBAUM, DH., DUNAWAY, BJ., SONNINO, RE., STELLIN, G., BEREND, ME., HARMEL, RP.. "Leakage of intraluminal low molecular weight Polyethilene Glycol as a marker of small bowel transplant rejection". J Ped Surg. 1989; 24: 64-69.
- 125.- MAEDA, K., SCHWARTZ, MZ., BAMBERGER, MH., DAMILLER, A.. "A possible serum marker for rejection after small intestinal transplantation". Am J Surg. 1987; 153: 68-74.
- 126.- MYUNG, DI., SMITH, SD., YUNIS, EJ., ROWE, MI.. "In vivo transmural potential difference: an early monitor of rejection in small bowel transplantation". J Ped Surg. 1989; 24: 767-770.
- 127.- ROSEMURGY, AS., SCHRAUT, WH.. "Small bowel allografts, sequence of histologic changes in acute and chronic rejection". Am J Surg. 1986; 151: 470-474.
- 128.- GLEICHMANN, E., ROLINK, AG., PALS, ST., GLEICHMANN, H.. "Graft vs. host reaction: clues to the pathogenesis of a broad spectrum of immunologic disease". Transplant Proc. 1983; 15: 1436-1440.
- 129.- SCHRAUT, WH., LEE, KKW., DAWSON, PJ., HURST, RD.. "Pathologic changes associated with graft vs. host disease induced by small bowel allografts". Transplantation. 1986; 41: 286-290.
- 130.- LILLEHEI, RC., MANAX, WG.. "Organ transplantation: a review of past accomplishments, present problems and future hopes". Anesth Analg. 1966; 45: 707.
- 131.- COHEN, Z., McGREGOR, AB., MOORE, KTH., FALK, RE., LANGER, B., CULLEN, JB.. "Canine small bowel transplantation, a study of immunological responses". Arch Surg. 1976; 111: 248-253.

- 132.- MOYNIHAM, HL., STANGL, MS., LANGREHR, J., LEE, KKW., BANUER, B., SCHRAUT, WH.. "The development of graft vs. host disease in the inmunogically compromised recipient of a small bowel allograft". Transplant Proc. 1990; 22: 2055-2057.
- 133.- DIFLO, T., MAKI, T., BALOGH, K., MONACO, AP.. "Graft vs. host disease in fully allogenic small bowel transplantation in the rat". Transplantation. 1989; 47: 7-11.
- 134.- GARCIA, B., GRANT, D., ZHONG, R., DUFF, J., WIGSMAN, J., STILLER, C.. "Pathological findings with graft vs. host reaction induced by intestinal transplantation in the rat". Transplant Proc. 1989; 21: 2890-2891.
- 135.- SIMONSEN, M.. "Graft vs. host reaction: their natural history and applicability as tools research". Prog Allerg. 1962; 6: 349-367.
- 136.- FERGUSON, A., LUND, EK., PICKERING, MG., SMITH. MW.. "Lymphocite induced changes in disacharidase expression by neonatal mouse enterocytes". J Phisiol. 1985; 364: 84-87.
- 137.- HITCHINGS, GH., ELION, BG., FALCO, EA.. "Antagonists of nucleic acid derivates". J Biol Chem. 1950; 183: 1-12.
- 138.- PRESTON, FW., CACALULAD, F., WACHOWSKY, TJ., RANDOLPH, DA., APOSTOL, JV.. "Survival of homografts of the intestine with and without inmunosuppression". Surgery. 1966; 60: 1203-1210.
- 139.- RUIZ, JO., UCHIDA, H., SCHULTZ, LS., LILLEHEI, RC.. "Problems in absorption studies and inunosuppressive agents on canine jejunal allografts". Am J Surg. 1972; 123: 297-303.
- 140.- DEUTSCH A., ARENSMAN, R., LEVEY, R., FOLKMAN, J.. "The effect of antilymphocyte serum on fetal rat intestine transplanted as free subcutaneus homograft". J Pediatr Surg. 1974; 9: 29-34.
- 141.- QUINT, J., HARDY, MA., STATE, D.. "Effects of antilymphocyte serum on absorptive function and survival of dog intestinal allograft". Surg Forum. 1968; 19: 184-186.

- 142.- SHAFFER, D., MAKI, T., deMICHELE, SJ., KARLSTAD, M.. "Studies in small bowel transplantation, prevention of graft vs. host disease with preservation of allograft function by donor pretreatament with antilymphocyte serum". Transplantation. 1989; 45: 162-269.
- 143.- LAU, NC., KARIN, M., NGUYEN, T.. "Mechanisme of glucocorticoid hormone action". J Steroid Biochem. 1984; 20: 77-80.
- 144.- STANGL, MJ., LANGREHR, J., LEE, KKW., MOYNIHAM, HL., BANNER, B., SCHRAUT, WH.. "Inmunologic and metabolic consequences of in vitro and in vivo irradiation of small bowel allografts". Transplant Proc. 1990; 22: 2058-2059.
- 145.- LEE. KKW., SCHRAUT, WH.. "In vitro irradiation prevents graft vs. host disease in small bowel transplantation". J Surg Res. 1985; 38: 364-366.
- 146.- GRANT, D., DUFF, J., ZHONG, R., MIMEAULT, R., INCH, R., STILLER, C.. "Effect of exvivo allograft irradiation combined with cyclosporine therapy in a pig intestinal transplant model". Tranplant Proc. 1989; 21: 2879-2880.
- 147.- SAAT, RE., HEINEMAN, E., de BRUIN, RWF., MARQUET, RL., JEEKEL, J.. "Total orthotopic allogenic small bowel transplantation in rats: attemps to ameliorate grafts vs. host disease by irradiation and transfusions of the donor". Transplantation. 1989; 47: 451-453.
- 148.- DONALDSON, SJ.. "Nutritional consequences of radiotherapy". Cancer. 1977; 38: 2407-2409.
- 149.- DREWS, J.. "Cyclosporine A. in Inmunopharmacology, principles ans perspectives. ed: Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg, New York. 1990.
- 150.- MAcKENZIE, R., NORDGREN, SR., REZNICK, RK.. "Small bowel transplantation in the dog using cyclosporine". Transplant Proc. 1983; 35: 284-288.
- 151.- DILLIZ-PEREZ, HS., McCLOURE, J., BEDETTI, C.. "Successful small bowel allotranspantation in dogs with CsA and prednisone". Transplantation. 1984; 37: 126-129

- 152.- RAJU, S., DIDLAKE, R.H., CAYIOLI, M., TURNER, M.D., GROGAN, J.B., ACHORD, J.. "Experimental small bowel transplantation utilizing CsA". Transplantation. 1984; 38:561-566.
- 153.- AEDER, MI., PAYNE, WD., JENG, LB., SUTHERLAND, DER., NAJARIAN, JS.. "Use of Cyclosporine for small intestinal transplantation in dogs". Surg Forum, 1984; 35: 387-390.
- 154.- SHIMAZU, R., RAJU, S., FUJIWARA, H., GROGAN, JB.. "Experimental small bowel transplantation: alternative strategies for graft prolongation". J Ped Surg. 1989; 24: 1253-1257.
- 155.- KIRKMAN, RL., LEAR, PA., MADUAR, JL., TILMEN, NL.. "Small intestine transplantation in the rat: inmunology and function". Surgery. 1984; 96: 280-289.
- 156.- SCHRAUT, WH., LEE, KKW.. "Long term survival of orthotopic small bowel allografts using CsA in: Deltz E, Thiede A, Hamelman H. (eds). Small bowel transplantation, experimental and clinical fundamentals". Springer-Verlag. Berlin. 1985.
- 157.- FALCHUK, ZM., BARNHARD, E., MACHADO, I.. "Human colonic mononuclear cells, studies of cytotoxic function". Gut. 1981; 22: 290-294.
- 158.- FABRE, JW., BATCHELOR, JR.. "The role of the spleen in the rejection and enhancement of renal allografts in the rat". Transplantation. 1975; 20: 219-226.
- 159.- BITTER-SUERMAN, H.. "Induction of lethal graft vs. host disease in rats by spleen grafting". J Surg Res. 1974; 17: 352-355.
- 160.- YAMAGUCHI, Y., HARLAND, R., WYBLE, C., MORI, K., BOLLINGER, R.. "Variable allograft responses to pretreatment with donor splenocytes treated with mitomycin C in the rat". Transplantation. 1989; 47: 360-363.
- 161.- STUART, FP., SAITOH, T., FITCH, FW., SPANGO, BH.. "Inmunological enhancement of renal allografts in the rat". Surgery. 1968; 64: 17-24.
- 162.- TELFORD, GR., CORRY, RJ.. "Inmunological enhancement of rat small intestinal allografts". Arch Surg. 1978; 113: 615-617.

- 163.- MARTINELLI, GP., KNIGHT, RK., KAPLAN, S., RACELIS, D., DIKMAN, S., SCHANZER, H.. "Small bowel transplantation in the rat: effects of pretransplant blood transfusions and cyclosporine on host survival". Transplantation. 1989; 45: 1021-1026.
- 164.- KINO, T., HATANAKA, H., HASHIMOTO, H.. "FK-506, a novel immunosuppressant isolated from a Streptomyces . I. Fermentation, isolation and physico-chemical and biological characteristics". J Antibiot. 1987; 40 (9): 1249-1255.
- 165.- MORRIS, RE., WANG, J., SHORTHOUSE, R., MEISER, BM.. "Induction of graft tolerance by brieft treatment with rapamycin, a new and far more potent and effective inmunosuppressant than cyclosporine". J Hearth Transplant. 1990; 55: 62-68.
- 166.- MORRIS, RE., HOYT, EG., EUGUI, EM., ALLISON, AC.. "Prolongation of hearth allograft survival by RS-61443". Surg Forum. 1989; 40: 337-339.
- 167.- JUNQUEINA, L.C., CARNEIRO, J., "Histologia básica", 3ª ed., Salvat Editores S.A. 1987; 324-331.
- 168.- LEESON, T.S., ROLAND, C., PAPARO, A.A.. "Atlas de histologia" Ed. Interamericana. McGraw-Hill. 1989; 435-454.
- 169.- ROSS, M.H., REITH, E.J.. "Atlas de Histologia" Ed. Doyma. 1987; 154-159.
- 170.- HERNANDEZ, E., GALEANO, F., PALACIOS, J., SUAREZ, JM.. "Conservación del intestino para transplante, acción de fármacos vasoactivos". Cirurg Esp. 1990; 19: 13-19.
- 171.- SONNINO, R.E., RIDDLE, J.M., PRITCHARD, T. J.. "Grading system for histologic changes in rat small bowel transplants". Transplant Proc. 1992; 24 (3): 1201-1202.
- 172.- PEGG, D.E.. "Organ Preservation". Surg Clin North Am". 1986; 66 (3): 617-632.
- 173- WALHBEY, J.A., SOUTHARD J.H., BELZER F.O.. "Development of a cold storage solution for pancreas preservation". Cryobiology. 1986; 23: 477.

- 174.- KAWAMURA, T., YOSHIZAKU, K., FUJIWARA, H.. "Seventy-two-hour preservation of the canine pancreas by the two-layer (Euro-Collins'solution / perfluorochemical) cold storage method". Transplantation. 1989; 47: 776-778.
- 175.- BENICHOU, J., HALGRIMSON, C.G., WEIL, R., KOEP, L.J., STARZL, T.E.. "Canine and human liver preservation for 6 to 18 hr by cold infusion". Transplantation. 1977; 24 (6): 407-411.
- 176.- FISCHER J.H., CZERNIEK, A., HANER, V.. "A new simple method for optimal storage of ischemically damaged kidneys". Transplantation. 1978; 25 (2): 43-49.
- 177.- ROSS, H., ESCOTT, M.L.. "Gaseous oxygen perfusion of the renal vessels as an adjunt in kidney preservation". Transplantation. 1979; 28 (5): 362-364.
- 178.- COLLINS, G.M., BRAVO-SHURGMAN, M., TERASAKI, PI.. "Kidney for transplantation: initial perfusion and 30 hours'ice storage". Lancet. 1969; 2: 1219-1222.
- 179.- ABOUNA, G.M., HURWITZ, R., SERROU, B.. "Organ preservation by Collins'solution". Lancet. 1971; 22:1076.
- 180.- MANAX, WG., BLOCH, JH., EYAL, Z., LILLEHEI, RC.. "Experimental preservation of the small intestine". Am J Surg. 1965; 109: 26-30.
- 181.- EYAL, Z., MANAX, WG., BLOCH, JH., LILLEHEI, RC.. "Successful in vitro preservation of the small bowel including maintenance of mucosal integrity with chloropromazine hypotermia and hyperbaric oxigenation". Surgery. 1965; 57: 259-268.
- 182.- IIJIMA, K., SALERNO, RA.. "Survival of small intestine following excision perfusion and autotransplantation". Ann Surg. 1968; 166: 968-975.
- 183.- AUSTEN, WG., McLANGHLIN, DE.. "In vitro small bowel perfusion". Surg Forum. 1965; 16: 359-361.
- 184.- GUTTMAN, FM., KHALESSI, A., HUXLEY BW.. "Whole organ preservation: a technique for in vivo freezing of canine intestine using intraarterial helium and ambient nitrogen". Cryobiology. 1966; 93: 107-118.

- 185.-WINDMUELLER, HG., SPAETH, AE., GANOTE, CE.. "Vascular perfusion of isolated rat gut, norepinephrine and glucocorticoid requeriments". Am J Physiol. 1970; 218: 197-201.
- 186.- TOLEDO-PEREYRA, LH., NAJARIAN, JS.. "Preservation of the small intestine for allotransplantation". Surg Gynecol Obstet. 1973; 137: 445-450.
- 187.- TOLEDO-PEREYRA, LH., NAJARIAN, JS.. "Small bowel preservation, comparison of perfusion and non perfusion systems". Arch Surg. 1973; 107: 875-877.
- 188.-TOLEDO-PEREYRA, LH., SIMMONS, RL., NAJARIAN, JS.. "Comparative effects of chloropromazine, methylprednisolone and allopurinol during small bowel preservation". Am J Surg. 1973; 126: 631-637.
- 189.- TOLEDO-PEREYRA, LH., SIMMONS, RL., NAJARIAN, JS.. "Prolonged survival of canine orthotopic small intestinal allografts preserved for 24 hours by hypothermic bloodless perfusion". Surgery. 1974; 75 (3): 368-376.
- 190.- VAN HOOSTERHOUT, JMA., DE BOER, HHM., JERUSALEM, CR.. "Small bowel transplantation in the rat: the adverse effects of increased pressure during the flushing procedures of the graft". J Surg Res. 1984; 36: 140.
- 191.- SCHRAUT, WH., LEE, KW., TSUJINAKA, Y.. "Intestinal preservation of the small bowel grafts by vascular washout and cold storage. in Deltz E, Thiede A, Hammelman H. eds. Small bowel transplantation: experimental and clinical fundamentals". Springer-Verlag, Berlin 1985, 98-115.
- 192.- RAJU, S., FUJIWARA, H., LEWIN, J., GROGAN, JB.. "Twelve hour and twentyfour hou preservation of small bowel allografts by simple hypothermia". Transplantation. 1988; 45: 290-293.
- 193.- PEREZ RUIZ, L., MARCO ESTARREADO, L. "Prevención de la dehiscencia de anastómosis con adhesivo de fibrina en el colon isquémico. Estudio experimental". Cirugia Española. 1990; XLVIII (1): 31-34.

- 194.- PEREZ RUIZ, L., GOMEZ QUILES, L, VIÑAS SALAS, J., IGLESIAS MARTINEZ, E., MARCO ESTARREADO, L.. "¿Protege una colostomia proximal la anastómosis colo-cólica?. Estudio experimental." Colo-proctology. 1993; IX (3): 83-86.
- 195.- PEREZ RUIZ, L., GOMEZ QUILES, L., LUCA, F., MARCO ESTARREADO, L., AUDISIO, R.A.. "Experimental bilioenteric anastomosis in the rat: a new technique". Research in Surgery. 1995; 7 (2): 80-82.
- 196.- COHEN, Z., WASSEF, R., LANGER, B.. "Transplante de intestino delgado". Surg Clin North Am. 1986; 66 (3): 601-606.
- 197.- PRITCHARD, T. J., KIRKMAN, R.L.. "Small bowel transplantation". World J Surg. 1985; 9: 860-867.
- 198.- PERA, C.. "Cirugía. Fundamentos, indicaciones y opciones técnicas". ed Salvat. Barcelona. 1983.
- 199.- MOMII, S., KOGA, A.. "Time-related morphological changes in cold-stored rat livers". Transplantation. 1990; 50 (5): 745-750.
- 200.- SOUTHARD, J.H., BELZER, F.O.. "The 24 to 48 hour preservation of canine liver by simple cold storage using UW lactobionate solution". Transplant Proc. 1989; 21: 1290-1291.
- 201.- TOLEDO-PEREYRA, LH. "Small bowel preservation: evolution of methods and ideas and current concepts". Transpl Proc. 1992; 24: 1083-1084
- 202.-ROBINSON, J.W.L., MIRKOWITCH, V.. "The roles of intraluminal oxygen and glucose in the protection of rat intestinal mucosa from the effects of ischaemia". Biomed. 1977; 27: 60-62.
- 203.- SERRA, J.M., CAÑADELL, J.. Técnicas de Microcirugía. Ed. EUNSA, Pamplona. 1979; 25-27.
- 204.- ACLAND, R.D.. "Practice mnual for microvascular surgery". Ed. Mosby, St. Louis. 1989
- 205.- MORALES, F., "Técnica microquirúrgica. Guia para su aprendizaje". Ed. Pecuatro, Sevilla. 1980

- 206.- DELTZ, E., THIEDE, A., HAMELMAN, H. "Small bowel transplantation, experimental and clinical fundamentals" Springer-Verlag. Berlin.1985.
- 207.- SERRA, J.M., VILA, R., Microcirugía reparadora. Ed. SALVAT, Barcelona. 1985; 5.
- 208.- THIEDE, A., DELTZ, E., ENGEMANN, R., HAMELMANN, H.. "Microsurgycal models in rat for transplantation research". Springer-Verlag. Berlin. 1985
- 209.-LEE, S.. "Experimental microsurgery". Ed IGAKU-SHOIN, New York. 1987.
- 210.- ARIAS, J., ALLER, M.A., LORENTE, L., RODRIGUEZ, J., DE PEDRO, J.A., BRANDAU, D., DURAN, H.. "Transplante experimental de órganos. Ed Garsi, Madrid. 1989.
- 211.- SONNINO, R.E., BESSER, A.S., POLLEY, T.Z., RIDDLE, J.M.. "A modified ttechnique for small bowel transplantation in the rat". J Ped Surg. 1986; 21: 1073-1077.
- 212.- ASARI, H., ANAISE, D., BACHVAROFF, R.J., SATO, T.. "Preservation techniques for organ transplantation". Transplantation. 1984; 37 (1): 113-114.
- 213.- WHEATTER, P.R., BURKITT, H.G., DANIELS, V.G.. "Histología funcional". Ed. Jims. 1987; 2ª ed.: 214-221.
- 214.. KRANSE, W.J., CUTTS, J.H.. "Histología". Ed. Médica Panamericana. 1989: 288-294.
- 215.- MARNI, A., FERRERO, M.E.."Heart and kidney transplantation in the rat using a mixed cuff-stentmicrosurgical technique". Am J Surg. 1988; 155: 590-593.
- 216.- STONEY, R.J., OLCOTT, C.. "Renoesplenic shunt for control of esophageal variceal hemorrhage". Am J Sur. 1978; 135: 432-435.
- 217.- TOLEDO-PEREYRA, L.H., SIMMONS, R.L., NAJARIAN, J.S.. "Two-to-three day intestinal preservation utilizing hypothermic pulsatile perfusion". Ann Surg. 1974; 179 (4): 454-459.

- 218.-JAMIESON, N.V., SUNDBERG, R., LINDELL, S., CLAESSON, K., MOEN, J., VREUGDENHIL, P.K., WIGHT, D.G., SOUTAHARD, J.H., BELZER, F.O.. "The 24 to 48 hour preservation of canine liver by simple cold storage using UW lactobionate solution". Transpl Proc. 1989; 21: 1290-1291.
- 219.- BRAUN, P., GUTTMAN, F., BERDNIKOFF, G., SANDBORN, E., MORIN, C.. "Short tterm hypothermic perfusión for intestinal preservation with dymethyl sulfoxide". Surg Gynec Obstet. 1976; 143: 43-50.
- 220.-ITASAKA, H., BURNS, W., WICOMB, W.N., EGAWA, H., COLLINS, G., ESQUIVEL, C.O.. "Modification of rejection by polyethylene glycol in small bowel transplantation". Transplantation. 1994; 57 (5): 645-648.
- 221.- STARZL, T.E., TZAKIS A.G., ABU-ELGMAD, K.. "Intestinal transplantation in composite visceral grafts or alone". Ann Surg. 1992; 216:223-234.
- 222.-SCHRAUT, W.H., LEE, K.K., SITRIN, M.. "Recipient growtch and nutritional status following transplantation of segmental small-bowel allograft". J Surg Res. 1987; 43: 1-9.
- 223.- LUTHER, B., WOLFF, H., DAVID, H., LEHMAN, CH.. "Results of the perfusion and preservation of animal and human small bowel transplant". Transpl Proc. 1990; 22(6): 2435.
- 224 RODRIGUEZ, F.J., TOLEDO-PEREYRA, L.H., SUZUKI, S.. "Twenty-four-hour total small bowel hypothermic storage preservation and transplantation in the rat: a study of various preservation solutions". J Invest Surg. 1994; 7 (5): 439-451.
- 225.- DELTZ, E., SCHROEDER, P., GUNDLACH, M., HANSMANN, M.L., LEIMENSTOLL, G.. "Successful clinical small bowel transplantation". Transpl Proc. 1990; 22: 2501.
- 226.-PLOEG, R.J., GOOSENS, D., McANULTY, J.F., SOUTHARD, J.H., BELZER, F.O.. "Successful 72-hour cold storage of dog kidneys with UW solution". Transplantation. 1988; 46 (2): 191-196...

- 227.-ONTELL, S.J., MAKOWKA, L., OVE, P., STARZL, E.. "Improved hepatic function in the 24-hour preserved rat liver with UW-Lactobionate Solution and SRI 63-441. Gastroenterology. 1988; 95 (6): 1617 1624...
- 228.- RECKENDORFER, H., BURGMANN, H., SPERLICH, M., SPIECKERMANN, PG.. "Small intestine energy metabolism during hypotermic storage using different protecting solutions". Transpl Proc. 1992; 24: 1094.
- 229.- SCHWEIZER, E., GASSEL, A, DELTZ, E., SCHROEDER, P.. "Morphological and histologic alterations after small bowel transplantation. A comparison of different perfusion solutions. Transplant Proc. 1992; 24 (3) p 1087.
- 230.- DE OCA, J., VALLET, J., BETTONICA, C., GARCIA, A., MONTAñES, T., CASTELLS, A.,. CUADRADO, S., MERCADAL, M., FIOL, C.. "Influence of liquid preservation on lipid peroxidation and bacterial permeability after small bowel transplantation". Transplant Proc. 1995; 27 (4): 2382-2383.



