



**ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL  
TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL**  
**Mercè Hernández i González**

**ISBN: 978-84-693-6289-1**  
**Dipòsit Legal: T-1606-2010**

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tesisenxarxa.net](http://www.tesisenxarxa.net)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tesisenred.net](http://www.tesisenred.net)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tesisenxarxa.net](http://www.tesisenxarxa.net)) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI  
ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL  
Mercè Hernández i González  
ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010

**UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI  
FACULTAT DE MEDICINA I CIÈNCIES DE LA SALUT  
DEPARTAMENT DE MEDICINA I CIRURGIA  
UNITAT DE CIRURGIA**

**ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL  
DEL TRASPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL**

**TESI DOCTORAL  
MERCÈ HERNÁNDEZ I GONZÁLEZ**

**REUS, 1994**

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL

Mercè Hernández i González

ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010

FACULTAT DE MEDICINA I CIÈNCIES DE LA SALUT  
DEPARTAMENT DE NEFROLOGIA

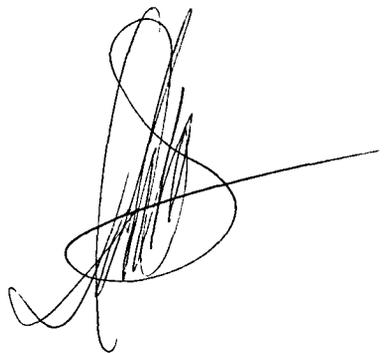
C/ SANT LLORENÇ, 21  
43101 REUS (TARRAGONA)  
TEL. 977 30 00 00  
WWW.ROVIRA.IR

Daniel del Castillo i Dèjardin, Professor Titular interí de  
Cirurgia de la Facultat de Medicina i Ciències de la Salut  
de la Universitat Rovira i Virgili,

**FA CONSTAR:**

que la Llicenciada en Medicina i Cirurgia,  
Sra. M<sup>a</sup>Mercè Hernández i González, ha realitzat sota la  
meva direcció el treball titulat "**Estudi de l'evolució  
micromorfològica i funcional del trasplantament intestinal  
experimental**", el qual considero que reuneix els requisits  
necessaris per a la seva presentació i posterior defensa  
davant del Tribunal corresponent per a l'obtenció del Títol  
de Doctor en Medicina i Cirurgia.

Reus, 24 d'octubre de 1994.



Signat: Daniel del Castillo i Dèjardin

0072-59960

T 60

**ALS MEUS PARES  
A LA MEVA GRAN FAMILIA  
A SERGI, PER LA SEVA IL·LUSIO  
A JULIO, PER LA SEVA PACIENCIA**

***A INES, A RUTH, I AL MEU AMIC RICARDO, in memoriam.***

***Tot alló que no es dóna es perd...***

***proverbi indi***

***Carpe diem***

## **AGRAÏMENTS**

Vull expressar el meu agraïment al Dr.Daniel del Castillo i Dèjardin, Professor Titular de Cirurgia de la Universitat Rovira i Virgili i Director del present estudi. La seva capacitat de treball, entusiasme i esperit científic han representat des de sempre un estímul constant per a la meva formació quirúrgica i universitària. La il.lusió que posa sempre en tots els treballs m'ha ajudat a superar les dificultats que anaven sortint.

Al Dr.Manuel Trias i Folch, Professor Titular de Cirurgia de la Universitat de Barcelona, que va iniciar-me en el món de la recerca científica quan encara era estudiant. Amb ell vaig aprendre les tècniques necessàries per la cirurgia experimental i especialment les destinades al trasplantament d'òrgans. Sense el seus consells i col.laboració, hagués estat impossible d'arribar a realitzar el present estudi.

A Sergi Vila Arasanz, per la seva magnífica ajuda durant la realització de la fase experimental d'aquest estudi. El seu interès per la pràctica de la Cirurgia, la seva vocació assistencial i la il.lusió per participar en el treball ha representat un suport important al seu desenvolupament.

Al Dr.Jaume Folch i Lòpez, per la seva insubstituïble col.laboració durant l'estudi morfomètric i el processament estadístic de les dades.

A Amparo Aguilar, Tècnica de Laboratori altament qualificada, que ha representat una gran ajuda en el processat histològic de les mostres. Amiga des de fa anys, els seus consells tècnics ha estat essencials en el present treball.

Al Departament d'Anatomia Humana, en especial a la Dra.Verònica Piera i a Montse Jové per haver-me permès disposar del seu laboratori per al processat histològic de les mostres.

Al Departament de Biologia i especialment a la Dra.M<sup>a</sup>Jose Figueras, per haver-me facilitat la infraestructura i coneixements necessaris pel maneig del Microscopi Electrònic.

Als membres de la Unitat de Recerca de Lípids Agnes Laville i Merche Heras per llur generosa participació en la realització de les determinacions bioquímiques.

Al Dr.Joan Fernàndez Ballart, per que la seva capacitat docent m'ha permés la comprensió d'aspectes relacionats amb l'anàlisi estadística.

A Cristina Pèrez i Encinas per la seva participació en la redacció del text i per la seva col.laboració desinteressada durant tot el temps de realització del nostre treball.

A M<sup>a</sup>Rosa Coy Hernández, Lluís Hernández Porcuna i Maribel Esteban Hernández per llur participació en l'obtenció i registre de bibliografia, així com en les tècniques de tinció histològica.

A Maricel, Tere Roig, Montse Salinas, Núria i Pilar, enfermeres de les Arees de Quiròfan i d'Urgències de l'Hospital Universitari Sant Joan per llur col.laboració en la esterilització del material quirúrgic i l'interés mostrat pel desenvolupament del treball.

A tots aquells que per la seva amistat i ajuda incondicional contribueixen sempre d'alguna manera a que la realització de treballs d'aquesta embergadura siguin possibles.

I finalment, hi ha un esser petit que ha seguit fidelment tot l'estudi, el processament de les dades i la redacció d'aquest treball. Mirant-me com treballava des de la seva cistella, o trepitjant les tecles de l'ordinador en un salt, o dormint al balancí, però sempre al meu costat, encara que fos molt tard... Gracies Sam.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL

Mercè Hernández i González

ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010

## INDEX GENERAL

<b>1. INTRODUCCIO</b> .....	1
<b>1.1. TRASPLANTAMENT DE BUDELL PRIM. BASES EXPERIMENTALS</b>	
1.1.1. MODELS EXPERIMENTALS .....	4
1.1.1.1. Experiències inicials .....	4
1.1.1.2. Tipus de trasplantament intestinal .....	11
1.1.1.3. Altres models de trasplantament intestinal ....	20
1.1.1.4. Trasplantament multivisceral .....	21
1.1.2. PRESERVACIO DEL SEGMENT INTESTINAL .....	22
1.1.2.1. Mètodes de conservació en el trasplantament intestinal .....	22
1.1.2.2. Valoració de la viabilitat postisquèmica del budell prim .....	23
1.1.3. IMMUNOBIOLOGIA DEL TRASPLANTAMENT INTESTINAL	24
1.1.3.1. Història natural del rebuig .....	25
1.1.3.2. Reacció empelt contra hoste .....	28
1.1.3.3. Formes mixtes de resposta immunològica ....	31
1.1.4. TRACTAMENT DEL REBUIG .....	32
1.1.4.1. Immunosupressió amb Ciclosporina A .....	35
1.1.4.2. Nous agents immunosupressors .....	41
1.1.5. TRACTAMENT DE LA REACCIO EMPELT CONTRA HOSTE	44
1.1.6. EVOLUCIO DEL BUDELL TRASPLANTAT .....	46
1.1.6.1. Monitorització histològica .....	46
1.1.6.2. Funció absortiva del budell trasplantat .....	49
1.1.6.3. Distribució de les hormones gastrointestinals postrasplantament .....	50
1.1.6.4. Flora intestinal i funció immune .....	51
1.1.6.5. Marcadors serològics del rebuig .....	52
1.1.6.6. Endoscòpia i ultrasonografia en el seguiment del budell trasplantat .....	53
1.1.7. APLICACIONS CLINQUES DELS ESTUDIS EXPERIMENTALS .....	54
<b>1.2. SINDROME D'INSUFICIENCIA INTESTINAL FUNCIONAL</b> ...	56
1.2.1. ETIOLOGIA .....	56
1.2.2. FISIOPATOLOGIA .....	60
1.2.2.1. Conseqüències de la resecció intestinal sobre la motilitat .....	60
1.2.2.2. Conseqüències de la resecció intestinal sobre l'absorció de nutrients .....	61
1.2.3. PERSPECTIVES ACTUALS DEL TRACTAMENT DE LA SINDROME DEL BUDELL CURT ..	65
1.2.3.1. Períodes terapèutics .....	65
1.2.3.2. Tractament quirúrgic .....	68
1.2.3.3. Pronòstic dels pacients amb insuficiència intestinal: Indicacions i contraindicacions del trasplantament intestinal .....	71

<b>1.3. TRASPLANTAMENT INTESTINAL CLINIC</b> .....	74
<b>1.3.1. DONANTS I EXTRACCIÓ</b> .....	74
1.3.1.1. Obtenció del budell prim procedent de donants vius .....	74
1.3.1.2. Extracció del budell prim en el donant cadàver .	77
1.3.1.3. Solucions de preservació i temps d'isquèmia . .	82
1.3.2. TECNICA QUIRURGICA DEL TRASPLANTAMENT CLINIC	82
1.3.3. TERAPEUTICA IMMUNOSUPRESSORA .....	84
1.3.4. SEGUIMENT IMMUNOLOGIC I FUNCIONAL .....	85
1.3.5. EVOLUCIO DELS PACIENTS AMB TRASPLANTAMENT INTESTINAL .....	86
1.3.6. PERSPECTIVES DE FUTUR DEL TRASPLANTAMENT INTESTINAL .....	90
<b>2. HIPOTESI DE TREBALL</b> .....	92
<b>3. MATERIAL I METODEDES</b> .....	96
<b>3.1. ANIMAL D'EXPERIMENTACIO</b> .....	98
3.1.1. CARACTERISTIQUES GENERALS .....	98
3.1.2. CARACTERISTIQUES FILOGENETIQUES .....	100
3.1.3. ANATOMIA DEL BUDELL PRIM DE LA RATA .....	104
3.1.4. MORFOLOGIA FUNCIONAL DE LA MUCOSA INTESTINAL	107
3.1.4.1. Organització i arquitectura de la mucosa del budell prim .....	107
3.1.4.2. Estructura de les cèl.lules epitelials del budell prim	114
3.1.4.3. Funció absortiva .....	125
<b>3.2. METODEDES</b> .....	128
<b>3.2.1. SERIES EXPERIMENTALS</b> .....	128
3.2.1.1. Disseny de les sèries experimentals .....	128
3.2.1.2. Justificació de les sèries experimentals .....	132
3.2.1.3. Preparació preoperatòria dels animals .....	134
3.2.1.4. Anestèsia i sacrifici .....	135
3.2.1.5. Material quirúrgic .....	136
3.2.1.6. Tècniques quirúrgiques .....	138
3.2.1.7. Immunosupressió .....	159
<b>3.2.2. SEGUIMENT EVOLUTIU DELS ANIMALS</b> .....	159
3.2.2.1. Control peroperatori .....	159
3.2.2.2. Evolució clínica dels animals .....	160
3.2.2.3. Morbiditat i mortalitat .....	160
3.2.2.4. Variacions del pes .....	161
<b>3.2.3. ESTUDI FUNCIONAL: PROVA D'ABSORCIO       DE GLUCOSA I AIGUA</b> .....	162
3.2.3.1. Tècnica experimental .....	162
3.2.3.2. Obtenció de resultats .....	166

<b>3.2.4. ESTUDI MICROMORFOLOGIC</b> . . . . .	<b>167</b>
3.2.4.1. Processament de les mostres per microscopia òptica . . . . .	167
3.2.4.2. Processament de les mostres per microscopia electrònica de transmissió . . . . .	170
3.2.4.3. Estudi morfològic al microscopi òptic . . . . .	173
3.2.4.4. Determinacions morfomètriques . . . . .	176
3.2.4.5. Estudi morfològic al microscopi electrònic de transmissió . . . . .	180
<b>3.2.5. PROCESSAMENT ESTADISTIC</b> . . . . .	<b>181</b>
<b>4. RESULTATS</b> . . . . .	<b>184</b>
<b>4.1. ASPECTES TECNICS</b> . . . . .	<b>186</b>
<b>4.2. MORBIDITAT I MORTALITAT</b> . . . . .	<b>186</b>
4.2.1. MORBIDITAT I MORTALITAT DEGUDES A LA TECNICA . . . . .	187
4.2.2. MORBIDITAT I MORTALITAT PROPIES DEL MODEL EXPERIMENTAL . . . . .	190
<b>4.3. EVOLUCIO CLINICA DELS ANIMALS TRASPLANTATS</b> . . . . .	<b>196</b>
<b>4.4. VARIACIONS DEL PES</b> . . . . .	<b>197</b>
4.4.1. CRITERIS D'HOMOGENEITAT I NORMALITAT DE LES DADES . . . . .	197
4.4.2. VARIACIONS DEL PES EN EL TEMPS . . . . .	197
4.4.2.1. Grup A . . . . .	209
4.4.2.2. Grup B . . . . .	209
4.4.2.3. Grup C . . . . .	210
4.4.3. COMPARACIO DE LES DIFERENCIES DE PES ENTRE CADA GRUP . . . . .	210
<b>4.5. CARACTERISTIQUES MORFOLOGIQUES</b> . . . . .	<b>215</b>
4.5.1. HOMOGENEITAT DE LES DADES . . . . .	217
4.5.2. VARIACIO DE LES CARACTERISTIQUES MORFOLOGIQUES DE CADA GRUP EN EL TEMPS . . . . .	217
4.5.2.1. Valor de la puntuació a la superfície intraluminal . . . . .	217
4.5.2.2. Valor de la puntuació a la zona profunda . . . . .	222
4.5.3. COMPARACIO DE LES CARACTERISTIQUES MORFOLOGIQUES ENTRE ELS GRUPS . . . . .	230
4.5.3.1. Període postreperfusió (10 minuts) . . . . .	231
4.5.3.2. Als 7 dies . . . . .	231
4.5.3.3. Als 14 dies . . . . .	231
4.5.3.4. Als 21 dies . . . . .	231
4.5.3.5. Als 35 dies . . . . .	231
<b>4.6. DETERMINACIONS MORFOMETRIQUES</b> . . . . .	<b>232</b>
4.6.1. HOMOGENEITAT DE LES DADES . . . . .	232
4.6.2. VARIACIONS OBSERVADES PER A CADA GRUP EN EL TEMPS . . . . .	232
4.6.2.1. Alçada de les vellositats . . . . .	238
4.6.2.2. Amplada de les vellositats . . . . .	239
4.6.2.3. Superfície absorbiva per vellositat . . . . .	240

4.6.2.4. Diàmetre . . . . .	241
4.6.2.5. Percentatge d'escurçament del segment intestinal . . . . .	242
4.6.2.6. Area o superfície absorbent epitelial . . . . .	243
<b>4.6.3. COMPARACIÓ DE LES DETERMINACIONS OBSERVADES ENTRE ELS GRUPS . . . . .</b>	<b>244</b>
4.6.3.1. Període postreperfusió (10 minuts) . . . . .	246
4.6.3.2. Als 7 dies . . . . .	246
4.6.3.3. Als 14 dies . . . . .	246
4.6.3.4. Als 21 dies . . . . .	247
4.6.3.5. Als 35 dies . . . . .	247
<b>4.7. DETERMINACIONS FUNCIONALS: ABSORCIÓ DE GLUCOSA I AIGUA . . . . .</b>	<b>248</b>
<b>4.7.1. HOMOGENEITAT DE LES DADES . . . . .</b>	<b>248</b>
<b>4.7.2. VARIACIONS DE L'ABSORCIÓ DE GLUCOSA I AIGUA EN CADA GRUP EN EL TEMPS . . . . .</b>	<b>248</b>
4.7.2.1. Grup A . . . . .	253
4.7.2.2. Grup B . . . . .	253
4.7.2.3. Grup C . . . . .	254
<b>4.7.3. COMPARACIÓ DE L'ABSORCIÓ DE GLUCOSA I AIGUA ENTRE ELS GRUPS . . . . .</b>	<b>254</b>
4.7.3.1. Als 7 dies . . . . .	256
4.7.3.2. Als 14 dies . . . . .	256
4.7.3.3. Als 21 dies . . . . .	256
4.7.3.4. Als 35 dies . . . . .	257
<b>4.8. ANÀLISI DE CORRELACIÓ I REGRESSIÓ . . . . .</b>	<b>258</b>
<b>4.8.1. CORRELACIÓ I REGRESSIÓ SIMPLE O PARCIAL . . . . .</b>	<b>258</b>
4.8.1.1. Relació entre variables morfològiques i funcionals . . . . .	258
4.8.1.2. Relació entre variables morfomètriques i funcionals . . . . .	261
4.8.1.3. Relació entre variables funcionals . . . . .	265
<b>4.8.2. REGRESSIÓ MÚLTIPLE . . . . .</b>	<b>267</b>
4.8.2.1. Relació entre variables morfomètriques . . . . .	267
<b>4.9. ALTERACIONS ULTRAESTRUCTURALS . . . . .</b>	<b>271</b>
4.9.1. CITOPLASMA . . . . .	271
4.9.2. MICROVELLOSITATS I XARXA TERMINAL . . . . .	271
4.9.3. RETICLE ENDOPLASMÀTIC . . . . .	272
4.9.4. MITOCONDRIES . . . . .	272
4.9.5. ESPAI INTERCEL·LULAR . . . . .	272
<b>5. DISCUSSIÓ . . . . .</b>	<b>284</b>
<b>5.1. MODEL EXPERIMENTAL DE TRASPLANTAMENT DE BUDELL PRIM . . . . .</b>	<b>286</b>
5.1.1. TIPUS DE TRASPLANTAMENT . . . . .	286
5.1.2. CONSIDERACIONS TÈCNiques . . . . .	286
5.1.3. MORBIDITAT I MORTALITAT . . . . .	287

5.1.4. VARIACIONS DEL PES .....	289
<b>5.2. ALTERACIONS MORFOLOGIQUES .....</b>	<b>292</b>
5.2.1. SISTEMA DE GRADACIO HISTOLOGICA .....	292
5.2.2. VARIACIONS DE LES CARACTERISTIQUES MICROMORFOLOGIQUES .....	293
<b>5.3. ESTUDI MORFOMETRIC .....</b>	<b>296</b>
5.3.1. SISTEMES DE MESURAMENT .....	296
5.3.2. VARIACIONS MICROMORFOMETRIQUES .....	297
<b>5.4. ALTERACIONS FUNCIONALS .....</b>	<b>300</b>
5.4.1. ABSORCIO DE GLUCOSA I AIGUA .....	300
5.4.2. EFECTES DE LA ISQUEMIA I REPERFUSIO SOBRE L'ABSORCIO .....	301
5.4.3. DENERVACIO I FUNCIO ABSORTIVA .....	301
5.4.4. INTERRUPCIO LIMFATICA I ABSORCIO .....	303
5.4.5. RESPOSTA IMMUNOLOGICA I FUNCIO ABSORTIVA .....	304
<b>5.5. INTERPRETACIO DE L'ANALISI DE CORRELACIO .....</b>	<b>306</b>
<b>5.6. ALTERACIONS ULTRAESTRUCTURALS .....</b>	<b>308</b>
<b>5.7. VALORACIO GLOBAL DELS RESULTATS .....</b>	<b>312</b>
<b>6. CONCLUSIONS .....</b>	<b>314</b>
<b>7. BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>320</b>

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL

Mercè Hernández i González

ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010

## **1. INTRODUCCIO**

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL

Mercè Hernández i González

ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010

## 1. INTRODUCCIÓ

L'evolució històrica de la Cirurgia dels darrers cinquanta anys ha permès passar d'una cirurgia amb tendència simplement exerètica a una cirurgia de caràcter funcional. Durant la darrera dècada, els avenços en les tècniques de reanimació intensiva i el millor coneixement i control de les reaccions immunològiques del rebuig han possibilitat el desenvolupament de la cirurgia de substitució o trasplantament d'òrgans. Actualment, la pèrdua de funció d'òrgans com els ronyons, fetge, cor o pàncreas pot ser compensada mitjançant el seu trasplantament. En canvi, trasplantar el budell prim, únic tractament fisiològic per la incapacitat funcional massiva d'aquest òrgan, encara no es pot considerar un procediment quirúrgic amb un èxit regular.

Les indicacions del trasplantament intestinal no són freqüents. La insuficiència intestinal o síndrome del budell curt pot definir-se com un estat de manteniment nutricional insuficient al qual s'arriba després de la pèrdua anatòmica o funcional de la major part de la superfície absortiva del budell prim. Tal mancança seria incompatible amb la vida si no fos pel suport permanent de tècniques de nutrició artificial, sobre tot la Nutrició Parenteral Total.

Però malgrat el progrés en les tècniques de Nutrició Parenteral, aquesta no queda exempta de les complicacions pròpies de la infusió constant de solucions hiperosmolars i de la presència permanent d'un catèter venós central, de manera que als problemes de la malaltia principal es poden afegir altres disfuncions greus (hepatobiliars, pancreàtiques, ossies, etc.), a més de la incapacitat física i psíquica que tot això comporta per aquests pacients, la majoria dels quals són nens.

La substitució del budell prim seria indispensable pel tractament definitiu de la insuficiència intestinal, però encara s'han de resoldre problemes importants abans d'aplicar amb seguretat aquest tipus de trasplantament. Cal pensar també que, davant la presència de complicacions greus derivades de la Nutrició Parenteral, la possibilitat del retorn a una alimentació normal pot superar el risc que comportaria el trasplantament intestinal.

Les principals dificultats que es presenten alhora de trasplantar un òrgan com el budell prim rau fonamentalment en les seves característiques immunològiques. El

budell prim poseeix al seus teixits una gran quantitat d'elements immunocompetents, els quals provoquen una doble resposta immunitària en forma de rebuig o en forma de reacció empelt-contra-hoste, tot essent també possible la producció simultània i insidiosa d'ambdós tipus de resposta.

Aquesta complexitat immunològica fa que la immunosupressió també esdevingui un problema. El tractament amb Ciclosporina A, utilitzat com a base de la terapèutica immunosupressora en la majoria de trasplantaments, no és prou eficaç en la prevenció de la doble resposta immunològica a què dona lloc el budell prim trasplantat. Darrerament, es valora la introducció de nous agents immunosupressors com el FK506, Deoxispergualina, Rapamicina, RS-61443 i anticossos monoclonals, però encara no s'ha arribat a trobar una terapèutica d'elecció capaç de fer front al rebuig i a la reacció empelt contra hoste sense produir altres efectes secundaris sobre el sistema immunològic del receptor.

També cal encara conèixer la influència que poden tenir els diversos factors que intervenen en tot procés de trasplantament sobre la capacitat funcional del budell trasplantat. En aquest sentit, es desconeix el mètode i la solució de preservació més adequats, així com les limitacions del temps d'isquèmia freda sobre la viabilitat posterior del budell prim. No està definit amb seguretat quin segment intestinal és el més adequat per a garantir la funció nutricional, ni quina hauria de ser la seva longitud i emplaçament.

L'experiència clínica en el trasplantament de budell prim no ha aportat encara uns resultats satisfactoris, sobre tot pel que fa al manteniment d'un estat nutricional normal, basat en una dieta oral i sense l'aport de nutrients de forma artificial. Així, si bé és important conèixer tots els factors que intervenen en el trasplantament intestinal, l'estudi d'aquests factors ha de tenir com objectiu final el d'assolir un budell prim trasplantat capaç de realitzar la seva funció fonamental d'absorció de nutrients amb tot el que aquesta funció porta associat (secrecions intestinals, defensa immunitària, etc).

## 1.1. TRASPLANTAMENT DE BUDELL PRIM. BASES EXPERIMENTALS

Les bases fisiològiques i tècniques del trasplantament intestinal varen ser estudiades per primera vegada per Lillehei i els seus col.laboradors l'any 1959<sup>1</sup>. En aquests experiments inicials, s'observaren els efectes de la isquèmia i la revascularització post-trasplantament en el budell prim del gos.

Durant la dècada dels seixanta, es varen realitzar un gran nombre de treballs experimentals en els quals la supervivència dels animals trasplantats no es va assolir d'una forma regular. Malgrat això, el trasplantament de budell prim també es va realitzar en un petit nombre de malalts, sense que en cap dels casos la supervivència anés més enllà dels 79 dies de la intervenció<sup>2</sup>. El fracàs d'aquesta experiència va fer disminuir considerablement la recerca sobre el tema.

Amb el descobriment de la Ciclosporina A per Borel l'any 1976<sup>3</sup>, va resorgir l'interès pel trasplantament intestinal i des llavors fins l'actualitat, els estudis han estat centrats fonamentalment en la resposta immunològica al trasplantament i la capacitat funcional del budell trasplantat per a mantenir a llarg termini l'estat nutricional i la vida del receptor<sup>4,5</sup>.

### 1.1.1. MODELS EXPERIMENTALS

#### **1.1.1.1. Models inicials**

El primer model experimental de Lillehei<sup>1</sup> es va realitzar en gossos i consistia en extirpar el budell prim i col·locar-lo-hi de nou en el mateix animal, després de mantenir-lo conservat *in vitro* durant períodes de temps diferents (FIGURA 1).

Així, per observar la capacitat del budell prim de superar l'oclusió vascular mesentèrica, es va realitzar el clamatge de l'artèria Mesentèrica superior al seu origen aòrtic, i es va mantenir aquesta oclusió durant períodes de temps de 3 i 5 hores a temperatura ambient (FIGURA 1.1).

Posteriorment, en una segona fase de l'estudi, es va practicar la mateixa oclusió vascular mentre es perfundia una solució salina freda (5-10°C) a través de l'arbre mesentèric (FIGURA 1.2). D'aquesta manera s'observava com en condicions d'hipotèrmia, els efectes de la isquèmia sobre els teixits intestinals eren menors.

Una tercera fase es va destinar a valorar la possibilitat de que el budell prim pogués ser aïllat o extret de l'animal, conservat en fred i col.locat de nou al lloc d'origen, reestablint-se de nou l'aport vascular. Aquest model experimental, també en el gos, consistia en realitzar una exèresi del budell prim, des del duodè distal fins l'íleon, i amb el pedicle vascular format per l'artèria i la vena mesentèriques superiors. El budell prim extret es va conservar en fred durant 1 o 2 hores i, posteriorment es va practicar l'autotrasplantament, tot anastomosant l'artèria i la vena en forma termino-terminal. La continuïtat intestinal es va reestablir per anastomosi del segment entre el duodè i l'íleon (FIGURA 1.3).

Els animals trasplantats varen presentar diarrea i esteatorrea durant 7 dies i varen precisar reposició hidroelectrolítica per via endovenosa.

A les 3 setmanes, els gossos supervivents ja toleraven la dieta oral, varen guanyar pes i, entre la 4<sup>a</sup> i 6<sup>a</sup> setmana, la femta tenia aspecte normal.

A les 6 setmanes, l'observació dels budells autotrasplantats va mostrar la regeneració dels vasos limfàtics. L'estudi baritat intestinal mostrava l'existència d'una motilitat normal, signe de què els plexes mientèrics podien funcionar sense control del sistema nerviós extrínsec.

L'evolució de varis gossos va ser vigilada a llarg termini durant 7 anys. Aquesta supervivència perllongada va demostrar que les anastomosis de vasos de petit calibre podien restar permeables durant temps indefinits i que el budell prim podia conservar la seva funció absortiva malgrat la seva denervació.

L'observació microscòpica dels talls de budell prim dels gossos després de 7 anys també va mostrar unes característiques histològiques normals de la mucosa intestinal.

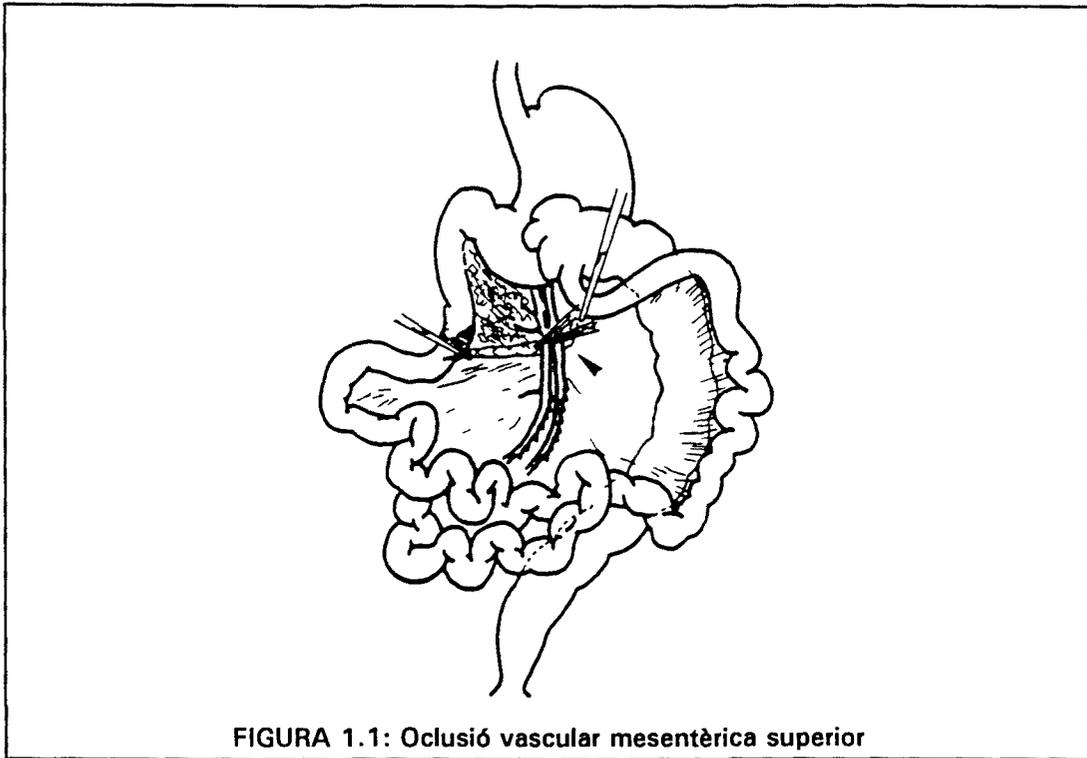


FIGURA 1.1: Oclusió vascular mesentèrica superior

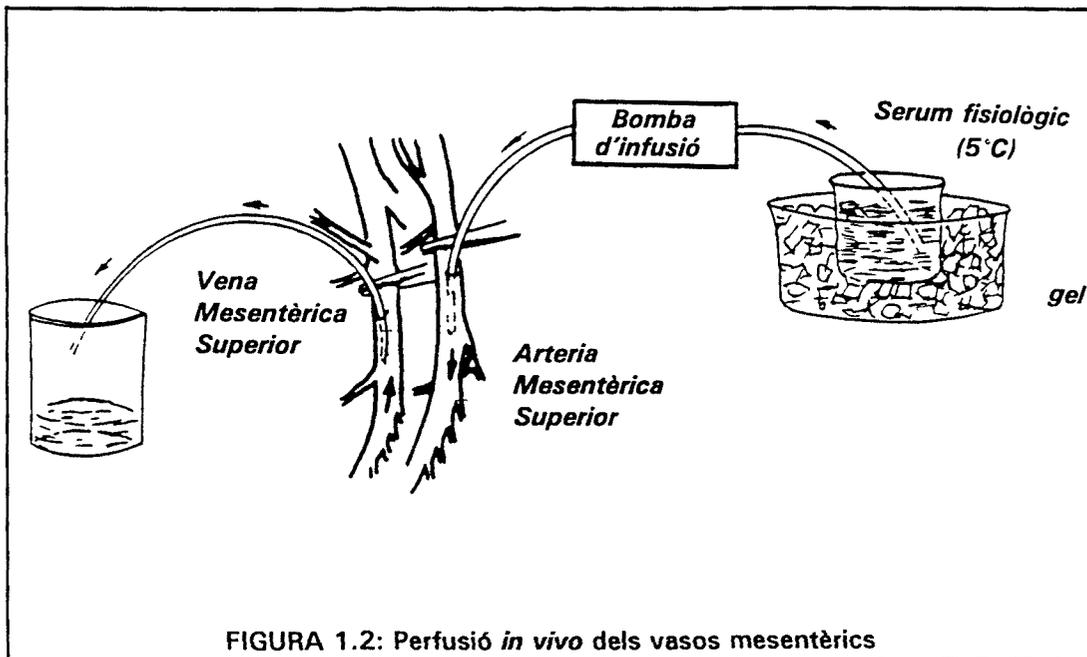
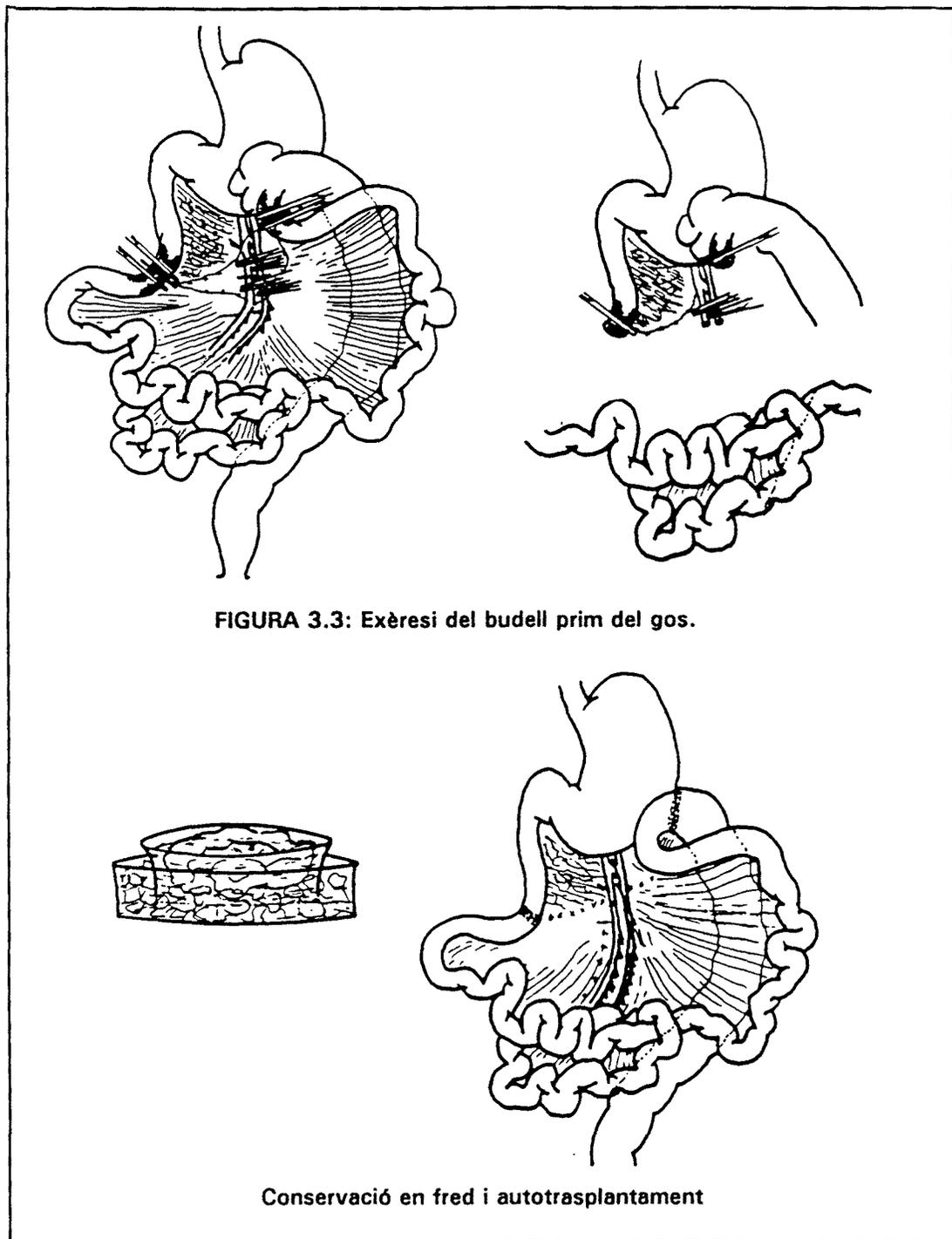


FIGURA 1.2: Perfusió *in vivo* dels vasos mesentèrics

FIGURA 1: MODEL EXPERIMENTAL DE LILLEHEI



**FIGURA 1 (CONTINUACIÓ): MODEL EXPERIMENTAL DE LILLEHEI**

Posteriorment a aquesta experiència, el mateix equip de Lillehei va realitzar trasplantaments entre gossos diferents. Cap dels animals va sobreviure més de 9 dies i, estranyament, no es van observar signes de rebuig als budells trasplantats<sup>6,7</sup>.

Aquest detall va fer pensar la possibilitat d'una reacció del teixit trasplantat cap al receptor com a causa de mort, i que aquesta reacció podria estar provocada per la gran massa antigènica que representava el budell trasplantat. Així, es va observar que si es disminuïa la longitud del budell prim a trasplantar fins a 15 cm i es reimplantava en forma heterotòpica a la regió cervical del gos, es produïa el rebuig del budell, però no la mort de l'animal,<sup>6,8,9</sup>.

Tot utilitzant aquest darrer model, es va estudiar la preservació, funció absorbiva i rebuig del budell prim trasplantat, així com l'efecte del tractament immunosupressor<sup>6,9,10</sup>.

El següent pas important pel coneixement de la immunobiologia del trasplantament intestinal va ser el model experimental de Monchick i Russell aplicat a la rata<sup>11</sup>.

En ell, per a estudiar la resposta immunològica cap al trasplantament de budell prim, es varen idear unes combinacions donant-receptor genèticament controlades i es va practicar una nova tècnica de trasplantament heterotòpic o auxiliar adaptada a la rata adulta.

Les combinacions donant-receptor formades entre rates de soques genèticament definides i les seves formes híbrides permetien observar les reaccions immunològiques en forma aïllada o unidireccional cap al rebuig o cap a la reacció de l'empelt contra l'hoste.

La nova tècnica quirúrgica de Monchick i Russell possibilitava la realització de l'anastomosi vascular necessària pel trasplantament intestinal malgrat el petit diàmetre dels vasos mesentèrics a la rata (FIGURA 2).

De la resecció intestinal a la rata donadora, se n'obtenia el budell prim amb el seu mesenterí des del duodè distal fins a l'fleum terminal, amb el pedicle vascular format per la vena porta i l'artèria mesentèrica superior. L'anastomosi vascular es facilitava perquè l'artèria mesentèrica superior no es seccionava directament, sinó que

se n'obtenia a partir de la secció del cilindre de l'artèria aorta d'on prové el seu origen (*cuff* aortic).

El budell es perfundia, via venosa, amb una solució salina heparinitzada freda i es submergia en fred fins a ser trasplantat.

A la rata receptora, es realitzava l'anastomosi vascular entre el *cuff* aortic donant i l'aorta receptora i entre la vena porta donant i la vena cava inferior del receptor, tot essent ambdues sutures en forma termino-lateral i en la porció infrarenal.

Els extrems intestinals s'exterioritzaven cap a la paret abdominal en forma de duodenostomia i d'ileostomia.

Si els animals sobreviuen, es realitzava una segona operació després de 5 mesos, en la qual es resecava el budell prim propi i se'l substituïa amb la interposició del budell auxiliar.

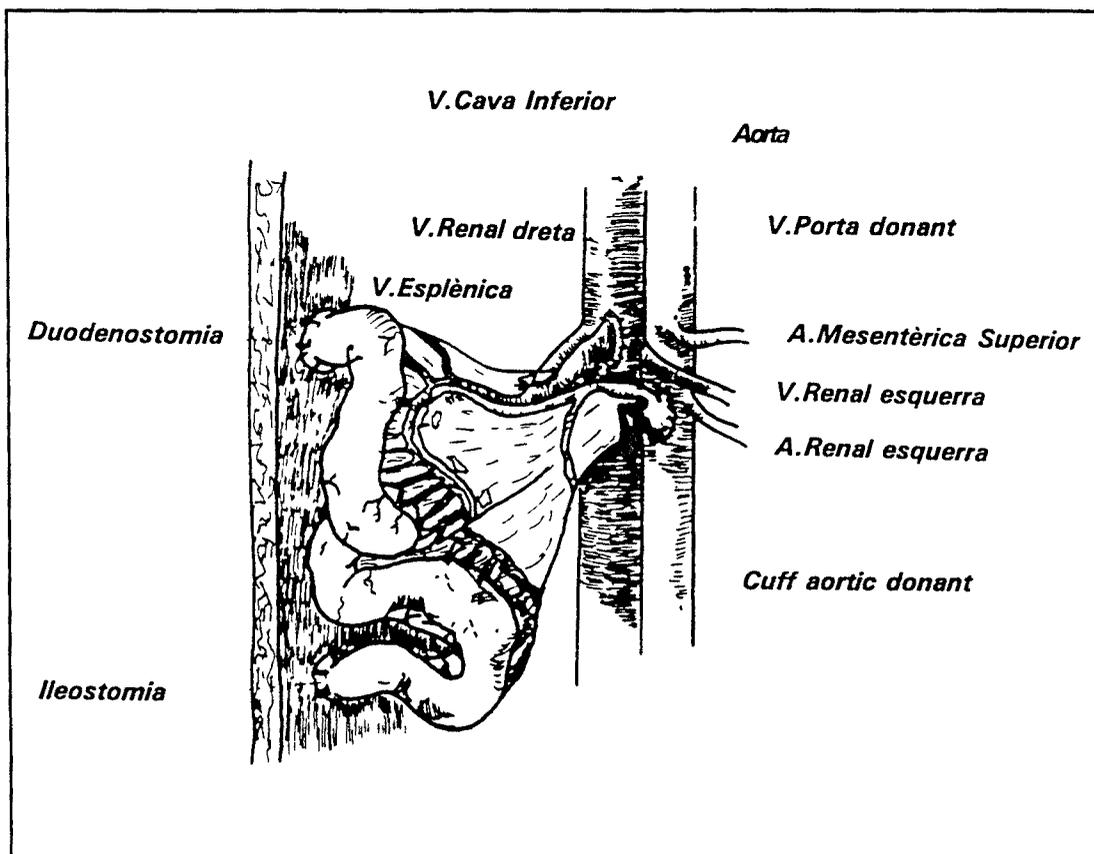


FIGURA 2: MODEL EXPERIMENTAL DE MONCHICK I RUSSELL

### 1.1.1.2. Tipus de trasplantament intestinal

Durant els darrers 15 anys, s'han utilitzat nombrosos models experimentals de trasplantament, els quals es poden classificar segons aspectes com:

- Emplaçament del nou òrgan
- Drenatge venós
- Combinacions donant-receptor

El tipus de trasplantament a realitzar dependrà de l'objectiu de cada estudi en particular.

#### ■ Segons la situació

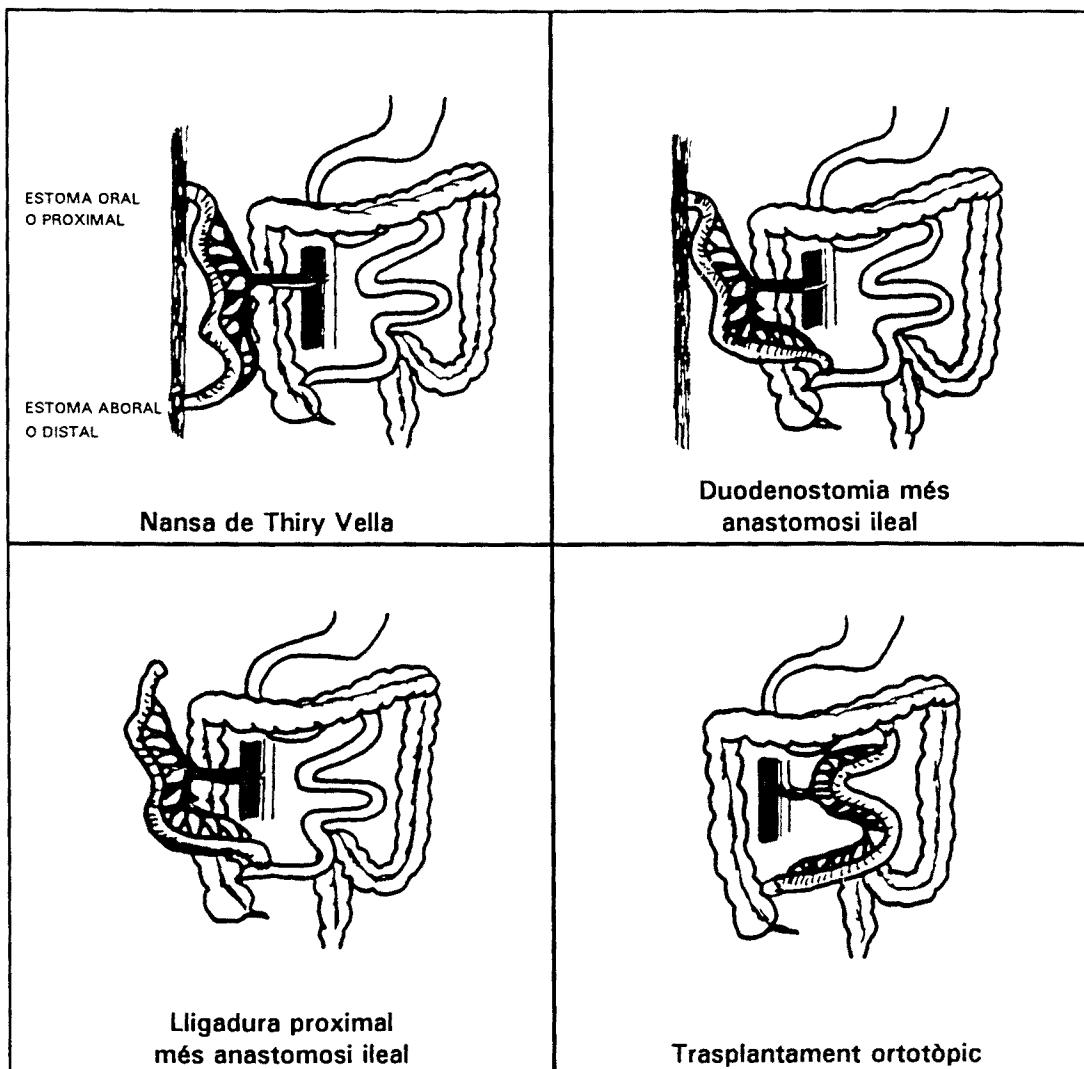
El trasplantament de budell prim es pot realitzar en dues formes:

- Trasplantament heterotòpic
- Trasplantament ortotòpic

El trasplantament heterotòpic consisteix en un trasplantament auxiliar en el qual el budell donant és trasplantat en addició al propi budell del receptor, deixant aquest *in situ*.

En el trasplantament ortotòpic, s'ha de reseca el budell prim del receptor i reemplaçar-lo pel budell donant, el qual es col.loca en la mateixa situació que l'original.

A la rata, el trasplantament heterotòpic es pot realitzar en 3 varietats les quals es diferencien segons la manera de col.locar els extrems oral o proximal i aboral o distal del segment intestinal (FIGURA 3)<sup>12,13</sup>. Els dos extrems es poden abocar a la paret abdominal en forma d'estomes cutanis. Aquesta disposició del segment intestinal s'anomena nansa de Thiry-Vella i consisteix en una nansa desfuncionalitzada o exclosa de la continuïtat intestinal i que es manté viable en conservar el seu pedicle vascular<sup>14</sup>. El problema que presenta és mantenir oberts els estomes cutanis. Un altra possibilitat és anastomosar l'extrem aboral a l'íleon terminal del receptor i deixar l'extrem oral fixat a la paret abdominal com un estoma. La tercera forma consisteix en anastomosar igualment l'extrem aboral a l'íleon però tot deixant tancat l'extrem oral amb una lligadura circular.



**FIGURA 3: TECNQUES DE TRASPLANTAMENT INTESTINAL A LA RATA**

Sigui com sigui, sempre és necessari mantenir oberta la comunicació de la llum intestinal per tal que drenin les secrecions de la mucosa.

Altres formes de trasplantament intestinal heterotòpic són aquelles en les quals la vascularització prové dels vasos renals<sup>15</sup>, o bé formes extraabdominals en les quals el budell auxiliar és col.locat a nivell de la regió cervical de l'animal<sup>8</sup>.

El trasplantament ortotòpic es pot realitzar en un sol temps operatori o en dos temps. Quan es realitza en un sol temps, la resecció intestinal en la rata receptora va seguida immediatament per la substitució d'aquest budell prim resecat.

En la tècnica del trasplantament en dos temps, el primer temps consisteix en un trasplantament heterotòpic o auxiliar tal com hem descrit abans; després de 3 setmanes, temps durant el qual es regeneren els vasos limfàtics que comuniquen els teixits de donant i receptor<sup>16,17</sup>, es procedeix al segon temps operatori. Aquest consisteix en realitzar inicialment la resecció del budell prim de l'hoste, tot fent lligadures als vasos mesentèrics; posteriorment, s'alliberen els extrems del budell trasplantat per tal d'anastomosar l'extrem oral donant amb el duodè del receptor i l'extrem aboral donant amb l'íleon del receptor.

El trasplantament ortotòpic complet és tècnicament més complicat que l'heterotòpic. Quan es realitza el trasplantament ortotòpic en un sol temps quirúrgic, la mortalitat a la rata és superior que si es realitza en els dos temps esmentats, ja que a l'agressió quirúrgica que representa una resecció intestinal massiva, s'afegeix la reacció cap al budell trasplantat. És preferible, i així ho fan la majoria d'autors, realitzar el trasplantament ortotòpic seguint els dos temps operatoris per tal d'obtenir-ne els resultats amb una menor morbi-mortalitat i millor rendiment dels animals<sup>12,18</sup>.

Quan s'utilitzen animals d'experimentació més grans, tals com el porc, el tamany dels budells i del pedicle vascular facilita la manipulació i realització d'anastomosis. Degut a això, en el trasplantament ortotòpic al porc, l'animal donant de budell pot ser alhora receptor del budell prim d'un altre si es fan dos trasplantaments simultàniament. Aquest intercanvi és possible sempre que l'extracció del budell es fagi a partir d'una zona distal del duodè, de manera que quedi preservada la vascularització del budell proximal remanent<sup>19</sup>.

Les complicacions d'origen tècnic més freqüents després del trasplantament heterotòpic són la trombosi, sobretot venosa, i el sagnat a l'anastomosi vascular. Al segment intestinal, es pot produir la volvulació del budell auxiliar i complicacions pròpies dels estomes tals com el prolapse o l'obstrucció<sup>20</sup>.

En el trasplantament ortotòpic, la fallada tècnica es produeix per oclusió a les anastomosis intestinals o bé per adherències entre nanses, a més de les complicacions citades pel trasplantament heterotòpic.

Tal com hem assenyalat anteriorment, cada tipus de trasplantament estarà relacionat amb l'objectiu de l'estudi. Els models de trasplantament heterotòpic són preferibles per la investigació d'aspectes immunològics com el rebuig i la reacció empelt contra hoste, ja que el receptor del trasplantament auxiliar pot sobreviure encara que el budell trasplantat estigui relativament lesionat. En canvi, en el cas del trasplantament ortotòpic, la lesió del nou budell significa la mort temprana de l'animal<sup>12,21,22</sup>.

Els models de trasplantament ortotòpic són útils per estudis preclínic que valorin el funcionament o capacitat absorbiva del budell trasplantat, sota unes condicions semblants a la normalitat i en interacció amb les reaccions immunològiques<sup>12,21,22</sup>.

#### ■ Segons el drenatge venós

En general, en animals petits com els rosegadors, el drenatge venós del budell trasplantat s'efectua per anastomosi de la vena porta donant amb la vena cava inferior.

La realització d'aquesta forma de drenatge venós porto-sistèmic és tècnicament més fàcil que realitzar el restabliment fisiològic del drenatge venós porto-portal<sup>23</sup>, si bé les conseqüències metabòliques d'aquesta derivació porto-cava no són ben conegudes<sup>24,25</sup>.

Estudis realitzats comparant els efectes del drenatge venós sistèmic del budell trasplantat front la realització d'una derivació porto-cava aïllada, mostren que les alteracions metabòliques basades en els nivells d'amoni lliure en sèrum, atròfia

hepàtica i pes corporal són similars, si bé menys accentuats en el cas del trasplantament<sup>23</sup>.

Per tant, no es pot preferir un tipus de derivació o altra basat en aquestes observacions, encara que es suggereix que, amb períodes d'observació més llargs i, tot utilitzant agents immunosupressors, els quals solen ser hepatotòxics, aquestes alteracions, ara mínimes, podrien progressar i produir seqüeles metabòliques d'importància clínica, per les quals s'aconsellaria el drenatge venós fisiològic portal en lloc de la derivació venosa sistèmica<sup>18,23</sup>.

Però també s'ha de tenir en compte que el drenatge venós portal pot ser tècnicament difícil en molts pacients en els quals l'accés a la vena porta és anatòmicament impossible per a realitzar l'anastomosi<sup>21</sup>.

#### ■ Segons les combinacions donant-receptor

S'anomena autotrasplantament a aquell en el qual el mateix donant d'un òrgan el torna a rebre com a receptor. Quan el trasplantament es fa entre animals de la mateixa espècie però sense identitat genètica, s'anomena alotrasplantament. Si el trasplantament es realitza amb donant i receptor de la mateixa espècie i la mateixa dotació genètica, es tracta d'un isotrasplantament<sup>26</sup>.

En els models experimentals que utilitzen animals grans, és difícil o gairebé impossible d'estudiar els components immunològics de la resposta al trasplantament intestinal d'una forma aïllada.

Tal com ja ha estat esmentat anteriorment, el model de Monchick i Russell<sup>11</sup> facilita l'estudi dels aspectes immunològics del trasplantament al combinar rates de soques immunogenèticament definides amb llurs híbrids  $F_1$  (FIGURA 4). Els híbrids  $F_1$  són el producte de l'encreuament entre dues rates de soca pura. Per exemple, les rates de la soca híbrida anomenada LBN provenen de l'encreuament entre rates LEW (Lewis) i rates BN (Brown Norway).

En els híbrids, els gens d'histocompatibilitat s'hereden de forma co-dominant a partir dels haplotips de cadascun dels progenitors de soca pura. Conseqüentment, quan es realitza un trasplantament entre un donant híbrid  $F_1$  i un receptor de soca

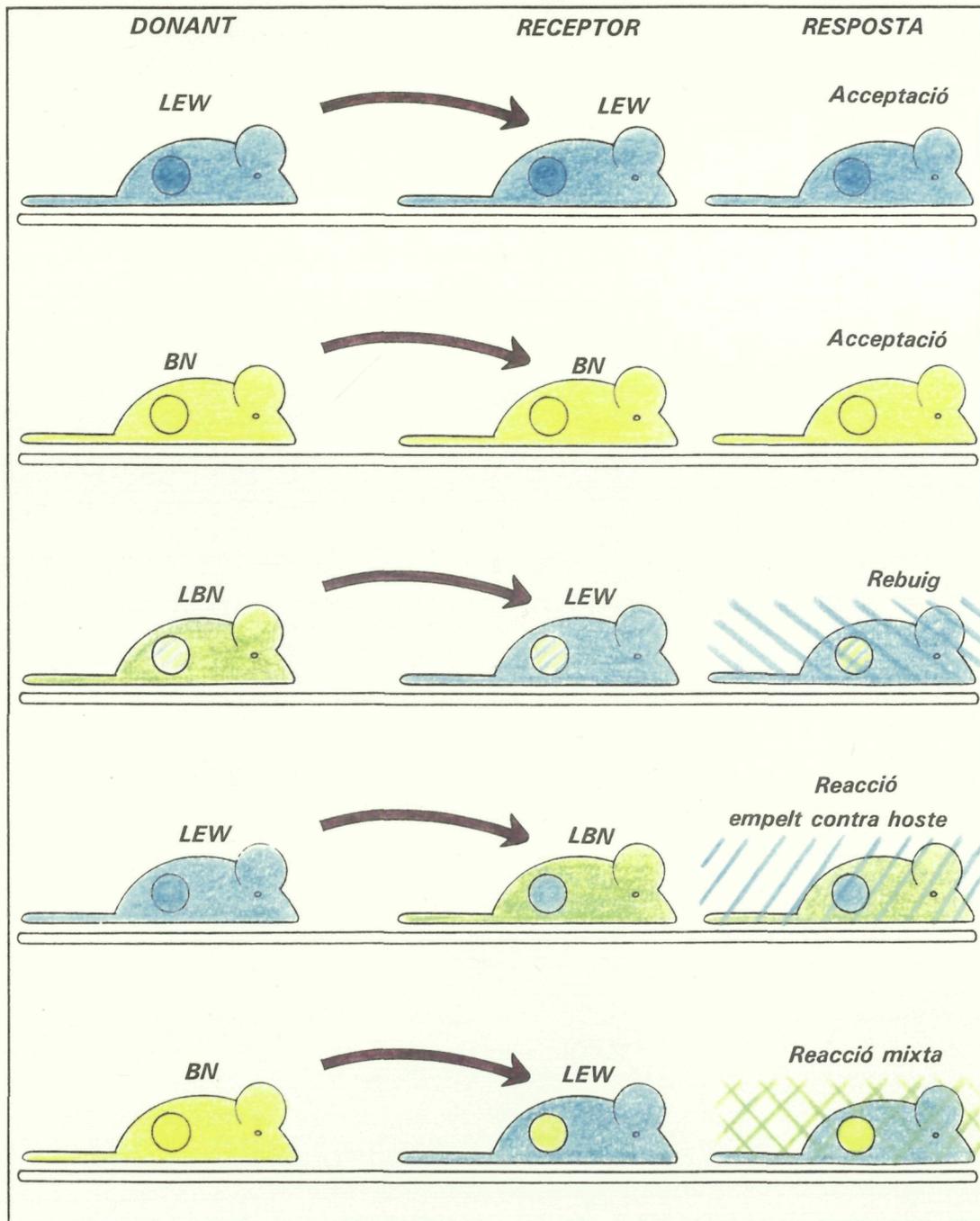
pura, els antígens d'histocompatibilitat del budell trasplantat són reconeguts com a no propis i es produeix la reacció de rebuig contra el nou òrgan.

Per l'altra banda, quan es combina un donant de soca pura amb un receptor híbrid, aquest híbrid  $F_1$  no reconeix com estrany el teixit procedent d'una rata de la soca pura d'origen i, per tant, el rebuig de l'alotrasplantament no es produirà. Però, en canvi, el budell trasplantat sí que rebutjarà els teixits d'aquest híbrid  $F_1$  receptor, degut a que sobre les seves cèl.lules identifica uns antígens d'histocompatibilitat que ell no posseeix, i es produirà la reacció empelt-contra-hoste (*graft-versus-host*).

Amb aquests artificis immunogenètics és possible estudiar les reaccions de rebuig i la de l'empelt contra l'hoste en forma individualitzada.

En el cas que la combinació donant-receptor s'estableixi entre rates de soques pures diferents, la resposta immunològica es produirà en una forma mixta i més o menys simultània de rebuig i reacció empelt-contra-hoste.





**FIGURA 4: COMBINACIONS DONANT RECEPTOR I RESPOSTA IMMUNOLOGICA A LA RATA**

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL

Mercè Hernández i González

ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010

### 1.1.1.3. Altres models de trasplantament intestinal

Els models experimentals que utilitzen segments de budell prim en lloc de l'òrgan complet permeten valorar els efectes del trasplantament de zones específiques d'absorció de nutrients com seria l'íleon terminal<sup>27</sup>.

També amb aquests models és possible valorar la resposta immunològica segons la longitud del segment trasplantat, la qual aniria en relació a la quantitat d'elements cel·lulars immunocompetents continguts per porció de teixit<sup>28,29</sup>.

En rates, la resposta al trasplantament de segments intestinals més curts i provinents de zones proximals sembla ser menor que amb segments més grans o amb els de zones més distals, sense que es pugui explicar si aquest fet es deu a una menor quantitat de teixit limfàtic trasplantat o bé a una diferència de caràcter immunològic entre el jejú i l'íleon<sup>28</sup>.

Una altra forma de trasplantament intestinal consisteix en la implantació de budell fetal al teixit subcutani de la paret anterior de l'abdomen<sup>2</sup>.

Amb el model utilitzat per primera vegada per Zinzar<sup>30</sup>, es va observar com el budell fetal avascular era capaç de vascularitzar-se i desenvolupar-se fins a les proporcions de l'adult, si era implantat al teixit subcutani d'una rata jove de la mateixa soca. El nou budell va presentar característiques histològiques similars a les del budell normal, mancant de serosa i mostrant unes microvellositats menys denses i més curtes<sup>31</sup>.

Les similituds estructurals i fisiològiques del nou budell suggereixen que aquest podria servir com un budell accessori<sup>31</sup>. S'ha pogut demostrar que en anastomosar els extrems d'aquest nou budell al budell prim del receptor, l'empelt intestinal és capaç de mantenir el peristaltisme i absorbir nutrients simples durant llarg temps, però en un percentatge molt petit d'animals<sup>2</sup>.

Amb l'aplicació d'immunosupressors, la implantació de budell fetal podria també intentar-se entre rates de soques diferents<sup>32</sup>.

Per últim, s'ha intentat l'aïllament i cultiu cel·lular d'enteròcits per tal d'expandir la mucosa intestinal però, si bé el creixement cel·lular ha estat possible, les cèl·lules implantades sobre zones de mucosa denudada no han estat viables<sup>33,34</sup>.

#### **1.1.1.4. Trasplantament multivisceral**

Donada la seva disposició anatòmica, el budell prim pot ser trasplantat en bloc juntament amb el pàncreas o amb el fetge. Aquesta forma de trasplantament multivisceral ha estat desenvolupada tècnicament en rates<sup>35,36,37</sup>, porcs<sup>38,39</sup> i micos<sup>40</sup>.

La combinació del trasplantament hepàtic amb l'intestinal és considerada com un model d'estudi aplicable en el futur pel tractament de pacients amb insuficiència intestinal associada a disfuncions hepàtiques<sup>21,41</sup>.

El fet observat de què el trasplantament hepàtic indueix una certa tolerància immunològica vers el trasplantament concomitant d'altres òrgans ha estat considerat en relació al trasplantament multivisceral de fetge i budell prim. El model de trasplantament combinat de fetge i budell és útil per a la valoració de l'efecte del drenatge portal sobre els antígens de l'òrgan trasplantat o sobre les cèl.lules immunoreactives del receptor<sup>42,43,44</sup>. També s'ha observat la protecció que exerceix el trasplantament hepàtic sobre la reacció empelt contra hoste, però els mecanismes de tal efecte protector no estan encara dilucidats<sup>37,45,46</sup>.

En el trasplantament multivisceral que combina fetge, pàncreas, duodè i budell prim, el component intestinal és el que resulta més afectat pels fenòmens del rebuig<sup>36,39</sup>.

### 1.1.2. PRESERVACIÓ DEL SEGMENT INTESTINAL

El desenvolupament d'un mètode efectiu per a preservar el budell prim durant l'interval de temps des de l'extracció fins el trasplantament és un factor clau per a l'èxit del trasplantament intestinal, és a dir, per a la seva viabilitat funcional malgrat haver patit un període d'isquèmia.

#### **1.1.2.1. Mètodes de conservació en el trasplantament intestinal**

La mucosa intestinal és particularment sensible a la isquèmia, però la seva capacitat de regeneració és important i ràpida.

Durant la isquèmia, les primeres lesions apareixen sobre les cèl.lules de la regió apical de les vellositats. Després d'un temps variable segons l'animal d'experimentació, les vellositats presenten una denudació completa de les cèl.lules epitelials però no de l'epiteli de les criptes, el qual és més resistent i permet la regeneració posterior de la mucosa intestinal<sup>47</sup>.

Deprés d'haver observat que el budell prim podia suportar relativament bé l'oclusió vascular sota unes condicions determinades, les tècniques de preservació per al seu trasplantament han anat evolucionant des dels anys seixanta fins l'actualitat.

Lillehei va demostrar que el budell prim es podia preservar durant 5 hores si es realitzava el rentat vascular per perfusió simple amb una solució salina freda i posteriorment es submergia en ella<sup>1</sup>.

Més tard, un altre membre del mateix equip, Manax, va mantenir viables, durant més de 24 hores, segments d'íleon els quals va submergir en una solució salina freda i amb dextrà al 5% i ho va fer dins una atmosfera d'oxigen hiperbàric<sup>48</sup>.

També es va valorar l'efecte de la perfusió mantinguda en forma pulsàtil en comparació al rentat simple, sense que els resultats obtinguts foren sempre positius ni uniformes. Així, mentre al grup de Toledo Pereyra el budell del gos podia conservar-se viable mitjançant la perfusió pulsàtil<sup>49,50</sup>, la tècnica del grup de Raju era capaç de mantenir el budell durant 12-24 hores per perfusió vascular hipotèrmica simple i rentat fred de la llum intestinal<sup>51</sup>.

Per altra banda, quan es va utilitzar la solució d'Eurocollins per comparar

l'efectivitat en hipotèrmia del rentat simple front la perfusió pulsàtil, aquesta darrera es va mostrar més eficaç<sup>52</sup>.

L'addició de substàncies a la solució de preservació pot tenir un efecte protector sobre el funcionalisme de la mucosa intestinal. En aquest sentit s'han utilitzat agents com la Naloxona o la Superoxid-Dismutasa per llur actuació sobre els radicals lliures formats durant la isquèmia i posterior reperfusió<sup>53,54,55,56</sup>, el Coenzim Q<sub>10</sub> per estimular la producció mitocondrial d'ATP afavorint la viabilitat post-isquèmica<sup>57</sup>, i el glucagó o les prostaglandines<sup>58</sup>, entre d'altres, no sempre amb uns resultats consistents<sup>59</sup>.

La preservació del budell prim durant períodes de temps curts o inferiors a 6 hores pot realitzar-se amb solucions de conservació variades. El rentat vascular amb solucions cristal·loides com el Ringer Lactat a baixa temperatura (4 °C) es mostra com el mètode més efectiu, fàcil i econòmic per a la preservació durant períodes de temps d'entre 6 a 18 hores<sup>60,61</sup>. En canvi, no hi ha resultats consistents en relació a la qualitat de la preservació per a períodes de temps llargs, si bé es tendeix a la perfusió intravascular contínua sola o en combinació amb perfusió de la llum intestinal<sup>59,61</sup>, tot utilitzant solucions col·loïdals modificades com la d'Eurocollins<sup>62</sup> o bé la de la Universitat de Wisconsin<sup>63</sup>.

El rentat intraluminal permet que, amb l'eliminació de certes substàncies nocives contingudes a la llum intestinal, s'afavoreixi la regeneració de la mucosa després de la isquèmia<sup>64</sup>.

#### **1.1.2.2. Valoració de la viabilitat postisquèmica del budell prim**

Una vegada trasplantat el budell prim, és essencial conèixer els canvis histològics i histoquímics causats per la isquèmia i la posterior revascularització per tal de preveure la seva viabilitat.

L'evidència dels danys produïts no es manifesta fins al menys 2 dies després de la revascularització. Estudis realitzats en rates mostren que si bé inicialment, només s'observen alteracions a nivell de les puntes de les vellositats i edema intra o subepitelial, posteriorment, entre 2 i 6 dies, les lesions consisteixen en un

escapçament de les puntes de les vellositats, un elongament i disminució del número de criptes de Lieberkühn, alteracions morfològiques dels enteròcits i les cèl.lules de Panneth i un augment de l'activitat mitòtica. L'edema pràcticament desapareix al voltant dels 4 dies<sup>61,63,65</sup>.

Amb l'estudi histoquímic es pot valorar l'activitat d'enzims de la vora en raspall com la maltasa i la alcalin-fosfatasa<sup>62,65</sup> i la composició de la secreció intestinal quant a Nicotinamida Adenin-Nucleòtids (NAD, NADH, NADP, NADPH) i concentració de lactat en relació al metabolisme energètic cel.lular a la mucosa intestinal<sup>66,67</sup>, així com la determinació de les glicoproteïnes glucosamina i galactosamina i àcid siàlic presents al mucus intestinal<sup>68</sup>. Però, encara que el budell trasplantat pot mostrar-se bioquímicament intacte o molt poc alterat, estructures responsables de la supervivència funcional final del budell trasplantat com les cèl.lules endotelials vasculares, poden estar lesionades de forma irreversible, i aquest detall no és detectable amb les tècniques bioquímiques esmentades<sup>67</sup>.

### 1.1.3. IMMUNOBIOLOGIA DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL

El budell prim trasplantat proporciona un estímul immunològic important a l'hoste per a respondre'l en forma de rebuig<sup>69</sup>. Però el gran nombre de cèl.lules immunocompetents que el mateix budell prim posseeix és responsable de la producció d'una reacció de l'empelt intestinal contra el receptor.

Aquesta resposta doble pot inclinar-se cap a una o altra forma quan s'utilitzen maniobres destinades a reduir o modificar l'activitat dels limfòcits, tals com la reducció del tamany del segment intestinal o la irradiació del budell donant<sup>70</sup>.

Encara que el rebuig al budell trasplantat s'ha de considerar com el més gran obstacle per a l'èxit del trasplantament, la reacció empelt-contra-hoste pot convertir-se en una complicació important sota certes circumstàncies. Els limfòcits del donant poden predominar quan ja preexisteix una incompetència immunològica del receptor, la qual pot ser deguda a malnutrició o com a resultat de la terapèutica

immunosupressora<sup>71,72,73</sup>. Sota aquestes circumstàncies, la resposta es decantarà cap a la reacció empelt-contra-hoste. El mateix succeirà en cas de donar-se la presència de limfòcits immunològicament induïts en el donant com a conseqüència d'una sensibilització prèvia i insospitada d'aquest contra el receptor<sup>72</sup>.

### 1.1.3.1. Història natural del rebuig

A la rata, el trasplantament de budell prim en combinació d'una donant de soca híbrida LBN cap a una receptora de soca pura LEW és rebutjat ràpidament en un temps de  $8.9 \pm 0.8$  dies<sup>11</sup>.

El rebuig es manifesta clínicament per pèrdua de pes, mal estat general, palpació d'una massa abdominal i mort de l'animal generalment per sèpsia<sup>74</sup>.

L'examen microscòpic del budell, tal com s'esquematitza a la FIGURA 5<sup>75,76</sup>, mostra als 3 dies del seu trasplantament, una apariència pràcticament normal de les estructures. Als 6 dies, ja s'observen canvis notables consistents en un escurçament de les vellositats amb una pèrdua important de la seva àrea de superfície absortiva. Els espais paracel·lulars i les puntes de les vellositats es mostren dilatats, però els enteròcits per ells mateixos no presenten alteracions. La làmina pròpia adjacent a les criptes es troba dilatada per la presència de cèl·lules mononuclears.

Després del dia 9 postrasplantament, la pèrdua de l'àrea de superfície mucosa és molt marcada doncs les vellositats escurçades prenen un aspecte llis. La làmina pròpia queda infiltrada difusament per cèl·lules limfoides. La mucosa es va destruint ràpidament i s'observa un infiltrat cel·lular transmural de limfòcits i leucocits polimorfonuclears, el qual afecta fins a la serosa i mostra peritonitis<sup>77</sup>.

L'endoteli vascular es lesiona tempranament, fet que condiciona els danys que es produeixen a les cèl·lules de les criptes. L'escurçament de les vellositats seria el resultat de la incapacitat de les cèl·lules de les criptes per a reemplaçar les de l'epiteli de les vellositats<sup>78</sup>.

El procés descrit correspon a la forma de rebuig agut durant la qual alguns autors diferencien com a fases I, II i III a les alteracions descrites pels períodes de temps citats de 3, 6 i 9 dies respectivament<sup>76</sup>. Aquesta forma de rebuig agut es dona

quan el drenatge venós del trasplantament es realitza de forma portosistèmica i en ella no s'observen diferències d'afectació entre l'fleum i el jejú.

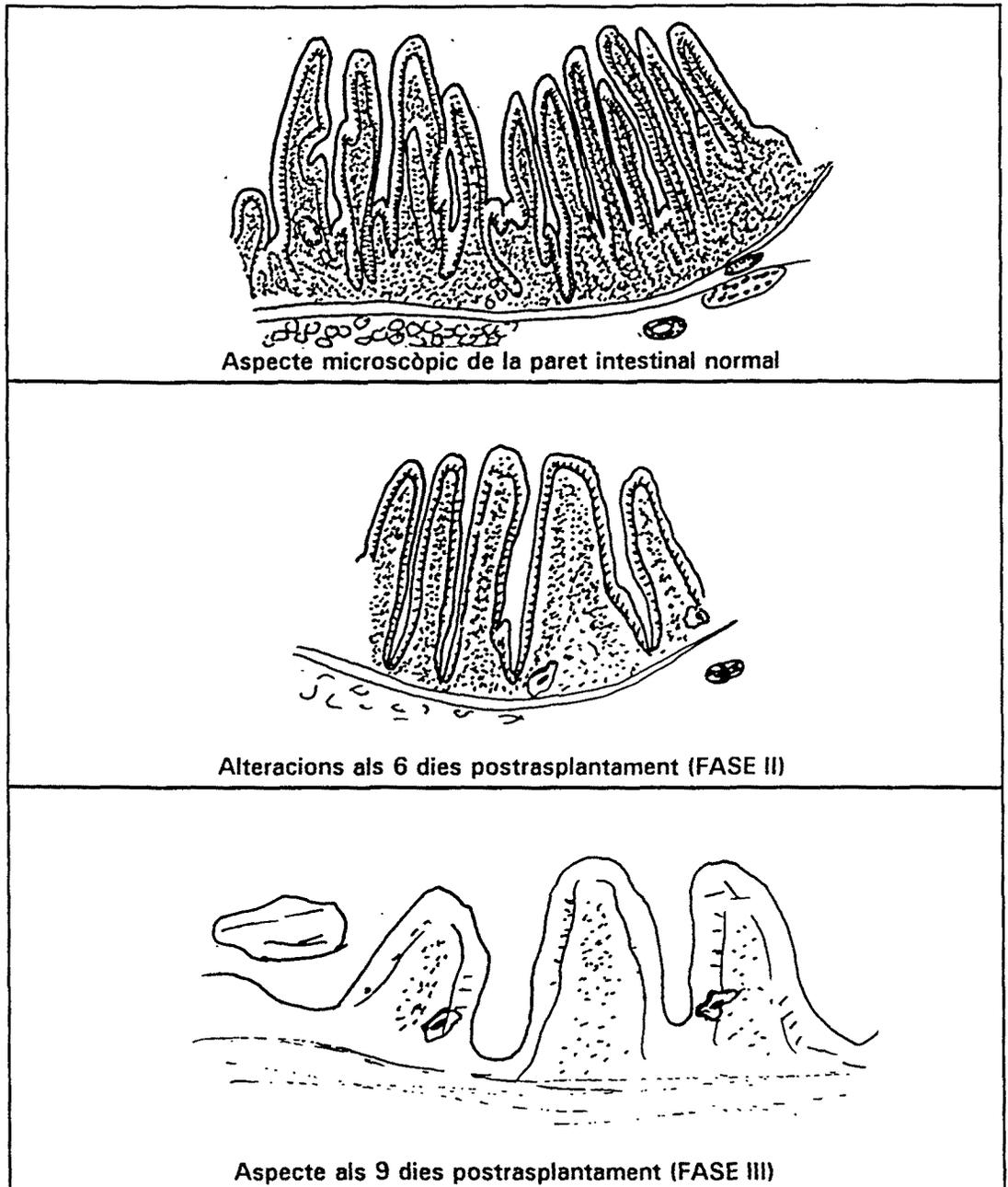
En el cas de realitzar el trasplantament de budell prim amb el drenatge venós per via portal, la resposta immunològica es desenvolupa més lentament, donant lloc al rebuig de tipus crònic. En ell es produeix una reacció fibròtica a la paret intestinal fins encapsular-la, de manera que, quan es tracta d'un trasplantament heterotòpic, la mort de l'animal no esdevé tant ràpidament, sinò que es retarda fins una mitjana de  $22.8 \pm 1.8$  dies<sup>20,76,77</sup>.

Les alteracions referides pel rebuig de tipus agut s'observen igualment, però en un temps més tardà, de manera que les observacions corresponents al 3<sup>er</sup> dia de la forma aguda no apareixen fins els dies 6 o 9 postrasplantament. Les lesions de la fase II, les quals es donarien al dia 6 de la forma aguda, no s'inicien fins després de 10 dies a la forma crònica. La destrucció de la mucosa i l'infiltrat cel.lular transmural de la fase III no es comprova sinò fins després d'uns 14 dies i, en aquest cas, la submucosa i la muscularis mucosae estan aprimades i fibrosades i tot el budell trasplantat va formant una massa encapsulada, amb les nanses adherides fermement entre sí<sup>77</sup>.

A la forma crònica, la transició entre les fases és molt gradual i solapada<sup>76</sup>, a diferència de la forma aguda, en la qual els límits es defineixen millor. Tampoc en la forma crònica es donen diferències en relació a l'afectació dels diversos trams del budell prim.

Els mecanismes pels quals el drenatge venós portal enlenteix la reacció de rebuig són poc coneguts. Es postula sobre la presència d'un factor de síntesi hepàtica el qual degradaria els complexos cel.lular-antígen procedents del budell trasplantat al passar a través de la circulació hepàtica<sup>79</sup>.

Els canvis histològics al budell trasplantat causats per la tècnica operatòria (isquèmia freda, revascularització, manipulació..) no persisteixen després del 3<sup>er</sup> o 4<sup>rt</sup> dia postoperatoris i, per tant, no es poden confondre amb les lesions relacionades amb el procés de rebuig<sup>76</sup>.



**FIGURA 5: EFECTES DEL REBUIG AGUT A LA PARET INTESTINAL**

### 1.1.3.2. Reacció empelt contra hoste

La reacció empelt-contra-hoste és el resultat de la transferència al receptor del teixit limfoid contingut al budell prim després del seu trasplantament. La demostració de tal fet s'obté tot observant que aquesta forma de resposta immunològica no es dóna en el trasplantament de cor o de ronyó, els quals no posseeixen tal quantitat d'estructures immunocompetents. A més a més, la responsabilitat del teixit limfoide trasplantat també pot evidenciar-se amb l'aplicació de tècniques de blocatge dels limfòcits en el budell donant, les quals evitarien la producció de la reacció empelt-contra-hoste. D'entre aquestes tècniques destaquen l'excisió dels ganglis limfàtics prèvia al trasplantament<sup>70,80</sup>, la irradiació del budell prim a transplantar<sup>81</sup> o dels limfòcits<sup>82</sup> i la timectomia<sup>11</sup>.

La reacció empelt-contra-hoste pot observar-se després del trasplantament intestinal en el gos i en la rata, però no en el cas del porc<sup>83,84</sup>.

A la rata i, tot utilitzant les combinacions de Monchick i Russell, s'observa que quan el trasplantament es realitza entre una donant LEW i una receptora LBN, es produeix la mort de l'animal receptor per una reacció empelt-contra-hoste en un període de temps d'uns 15 a 20 dies<sup>75,76,85</sup>, sense que influeixi el tipus de trasplantament orto o heterotòpic en aquest temps de supervivència ( $14.4 \pm 2.9$  dies en el trasplantament heterotòpic i  $14.0 \pm 07$  dies en el trasplantament ortotòpic)<sup>73</sup>.

Les manifestacions clíniques de la reacció empelt contra hoste consisteixen en pèrdua de pes, alopecía, dermatitis exfoliativa amb envermelliment i tumefacció de les orelles, musell, potes i regió periocular, hepatoesplenomegàlia i diarrea per enteritis del budell prim propi del receptor<sup>70,73,85</sup>. Aquestes alteracions són similars a les que es produeixen després del trasplantament de moll d'os.

Quan s'examina microscòpicament el budell trasplantat, el seu aspecte pot considerar-se normal<sup>72,78,86</sup>. En canvi, altres òrgans es veuen afectats de forma important. Així, l'íleum i el còlon de l'hoste presenten una paret prima, secreció groguenca i signes de peritonitis. L'enteritis que aquests animals pateixen al seu propi budell prim i al còlon consisteix histològicament en una reducció de l'alçada de les vellositats, amb aprimament de les puntes i infiltrat de cèl.lules polimorfonuclears a

la mucosa i la submucosa. Els signes microscòpics d'enteritis s'inicien entre els dies 10 al 14 postrasplantament.

La troballa histològica més important a les rates mortes per causa de la malaltia empelt-contra-hoste és l'atròfia i destrucció de tots els teixits limfoides. Les plaques de Peyer i els ganglis limfàtics tant del budell prim trasplantat com del receptor presenten una deplecció limfoide progressiva que comença al voltant del 5<sup>è</sup> dia postoperatori. Inicialment, tal deplecció s'acompanya d'una proliferació d'histiocits i immunoblastes en les àrees paracorticals, però aquestes formes cel.lulars desapareixen durant els dies següents i es dona limfopènia progressiva amb desaparició dels centres germinals i pèrdua de la diferenciació entre el córtex i la medul.la<sup>71,73</sup>.

A la melsa, la pèrdua de limfòcits cursa simultàniament a l'aparició de cèl.lules reticuloendotelials les quals semblen en procés de diferenciació a cèl.lules histiocitoides. L'examen histològic postmortem mostra una desaparició completa de l'arquitectura esplènica i la melsa consisteix en bandes de teixit fibròtic amb escasos elements cel.lulars<sup>71</sup>.

Als 7-9 dies del trasplantament, el timus presenta un aprimament de la cortical i atenuació de la zona medul.lar<sup>71,87</sup>.

El fetge mostra alteracions en forma d'infiltració per limfòcits a la zona periportal, amb destrucció dels canaliculs biliars a les tríades portals<sup>71,72,73</sup>.

La pell s'afecta de manera que l'epidermis s'engruixeix i el teixit cel.lular subcutani de la cara i les potes queda infiltrat per cèl.lules mononuclears i polimorfonuclears<sup>71</sup>.

Hematològicament existeix anèmia i graus variats de limfopènia amb leucopènia, si bé aquestes troballes no han estat uniformes per a tots els animals<sup>71</sup>.

La TAULA 1 mostra les principals diferències clinicopatològiques entre la reacció de rebuig i la reacció empelt-contra-hoste postrasplantament intestinal<sup>73</sup>.

REBUIG		EMPELT CONTRA HOSTE
Dermatitis	induïda per fàrmacs(?)	+++
Diarrea	+++	+++
Limfadenopaties	+/-	+++
Esplenomegàlia	+/-	+++
Febre	+++	+++
Biopsia pell	Negativa	Positiva
Biopsia ganglis limfàtics	Normal	Positiva

++++: freqüent    +: discret    -: ausent

**TAULA 1: DIFERENCIES CLINICOPATOLOGIQUES ENTRE LA REACCIÓ DE REBUIG I LA REACCIÓ EMPELT CONTRA HOSTE POSTRASPLANTAMENT INTESTINAL**

### 1.1.3.3. Formes mixtes de resposta immunològica

Quan el trasplantament es realitza entre animals sense unes dotacions immunogenètiques ben definides, com es el cas del gos o del porc, es produeixen formes de resposta en les quals el rebuig i la reacció empelt-contra-hoste poden aparèixer simultàniament i tot interferint l'una sobre l'altra<sup>22,83</sup>.

En el cas de la rata, aquesta forma de resposta pot donar-se posteriorment al trasplantament entre rates de soques pures com, per exemple, donants LEW o ACI sobre receptores BN o F344, si bé generalment predomina la forma de rebuig. Les rates amb ambdós tipus de reacció mostren simultàniament atròfia del teixit limfoid, destrucció del budell trasplantat i enteritis del budell propi<sup>72</sup>.

En el gos pot aparèixer un tipus de resposta classificada com "atípica"<sup>88</sup>, la qual es caracteritza per un deteriorament a l'estructura epitelial de la mucosa intestinal i afectació vascular, dels ganglis limfàtics i de la melsa. L'endoteli dels vasos presenta necrosi fibrinoide i es produeix trombosi, la qual cosa pot afectar o no l'estat de la mucosa, tot produint una pèrdua de gran part de la superfície absorbent i observant-se un augment de freqüència de mitosis a les cèl.lules de les criptes en un intent de compensar les pèrdues. Com a conseqüència de la lesió de la mucosa intestinal, es produeix malnutrició i una predisposició a les infeccions deguda al deterior de les estructures immunes de l'hoste i del budell trasplantat. D'aquesta manera, l'examen post mortem dels animals pot mostrar una barreja de signes que enmascaren els de la reacció immunològica propiament dita.

#### 1.1.4. TRACTAMENT DEL REBUIG

La diferenciació en fases de la seqüència dels canvis histològics de la reacció de rebuig és útil per l'adequació de la teràpia immunosupressora<sup>76</sup>.

Les mínimes lesions de la fase I poden ser ràpidament reversibles amb una modificació en la immunosupressió.

A la fase II, amb un desenvolupament més gradual, la immunosupressió pot no ser completament efectiva malgrat d'aplicar-la en forma agressiva i es considera aquesta fase com l'índici d'una pèrdua potencial del budell trasplantat.

La fase III significa ja un rebuig irreversible.

En els trasplantaments seguits de rebuig de tipus crònic, la transició de la fase II a la fase III és tant insidiosa que fa difícil distingir clarament entre el final de la fase II i l'inici de la III.

Abans del descobriment de la Ciclosporina A, els fàrmacs immunosupressors resultaren ineficaços pel control o prevenció del rebuig en els models experimentals i es tendia a utilitzar tècniques no farmacològiques per a retardar la resposta immunològica tals com el drenatge venós portal, l'esplenectomia o la irradiació del teixit a trasplantar.

La realització de l'esplenectomia del receptor com a tractament immunosupressor es basa en la supressió de la resposta limfocitotòxica dels anticossos contra el teixit trasplantat, tal com es va demostrar en el trasplantament renal a la rata<sup>89</sup>. Però l'esplenectomia també pot augmentar el risc de desenvolupar una reacció empelt-contra-hoste en suprimir els mecanismes immunològics relacionats amb la melsa<sup>90</sup>.

Prèviament al trasplantament, el tractament dels donants amb fàrmacs citotòxics, sèrum antilimfocític o irradiació, pretén millorar la supervivència de l'empelt en eliminar les cèl.lules immunocompetents situades a la làmina pròpia, les plaques de Peyer i els ganglis mesentèrics. Aquestes tècniques, útils en els trasplantaments cardíac i renal a la rata, no ho són pas en el cas de l'alotrasplantament intestinal, tal com va demostrar Schraut tot utilitzant la irradiació del budell prim a la rata i observant la supervivència postrasplantament<sup>91</sup>.

Els primers agents immunosupressors aplicats inicialment en el trasplantament intestinal foren azatioprina, prednisona i sèrum antilimfocític. L'azatioprina actua sobre la proliferació dels limfòcits tot blocant el desenvolupament de les cèl·lules efectores. La prednisona interfereix la presentació de l'antigen, inhibeix la resposta primària mitjançada pels anticossos i redueix el nombre de limfòcits T circulants. El sèrum antilimfocític produeix un bloqueig limfocitari amb globulines-anticossos sensibilitzats. L'aplicació d'azatioprina sola o combinada amb prednisona va permetre un allargament de la viabilitat dels trasplantaments segmentaris heterotòpics de jejú a la regió cervical del gos o en situació intraabdominal<sup>92,93</sup>. La combinació de les tres substàncies anteriorment esmentades també va mostrar un allargament en la supervivència funcional dels alotrasplantaments heterotòpics de jejú al coll del gos fins a 61 dies<sup>94</sup>. Però, si bé els períodes de viabilitat dels empelts tenen una mitjana de 20 a 40 dies, la durada d'aquests períodes oscil·la dels 5 als 125 dies<sup>95</sup>. Tal variabilitat i el fet de què les observacions provenien del trasplantament de segments curts de budell en situació heterotòpica, no resol el problema de si el gos sobreviuria quan el budell trasplantat fos l'única possibilitat per a l'absorció dels nutrients.

Quan es va aplicar la combinació d'azatioprina i prednisona al trasplantament ortotòpic, només 3 gossos van sobreviure una mitjana de 21 dies<sup>96</sup>. Aquests animals varen desenvolupar una hipoproteïnèmia greu i progressiva, la qual no es donava en els gossos autotrasplantats i que no rebien immunosupressors, per la qual cosa es va pensar en una enteropatia per pèrdua de proteïnes similar a la que apareix en les malalties inflamatòries intestinals<sup>29</sup>.

També es va observar que la prednisona afectava la renovació cel·lular dels enteròcits i, per tant, la seva administració lesionava l'òrgan al qual intentava protegir<sup>97</sup>. Amb el sèrum antilimfocític no es lesionava el budell prim, però tampoc no es va mostrar eficaç davant el seu rebuig<sup>94</sup>.

El nivell sobre el qual actuen els diversos immunosupressors en el desenvolupament del rebuig s'esquematitza a la FIGURA 6<sup>98</sup>.

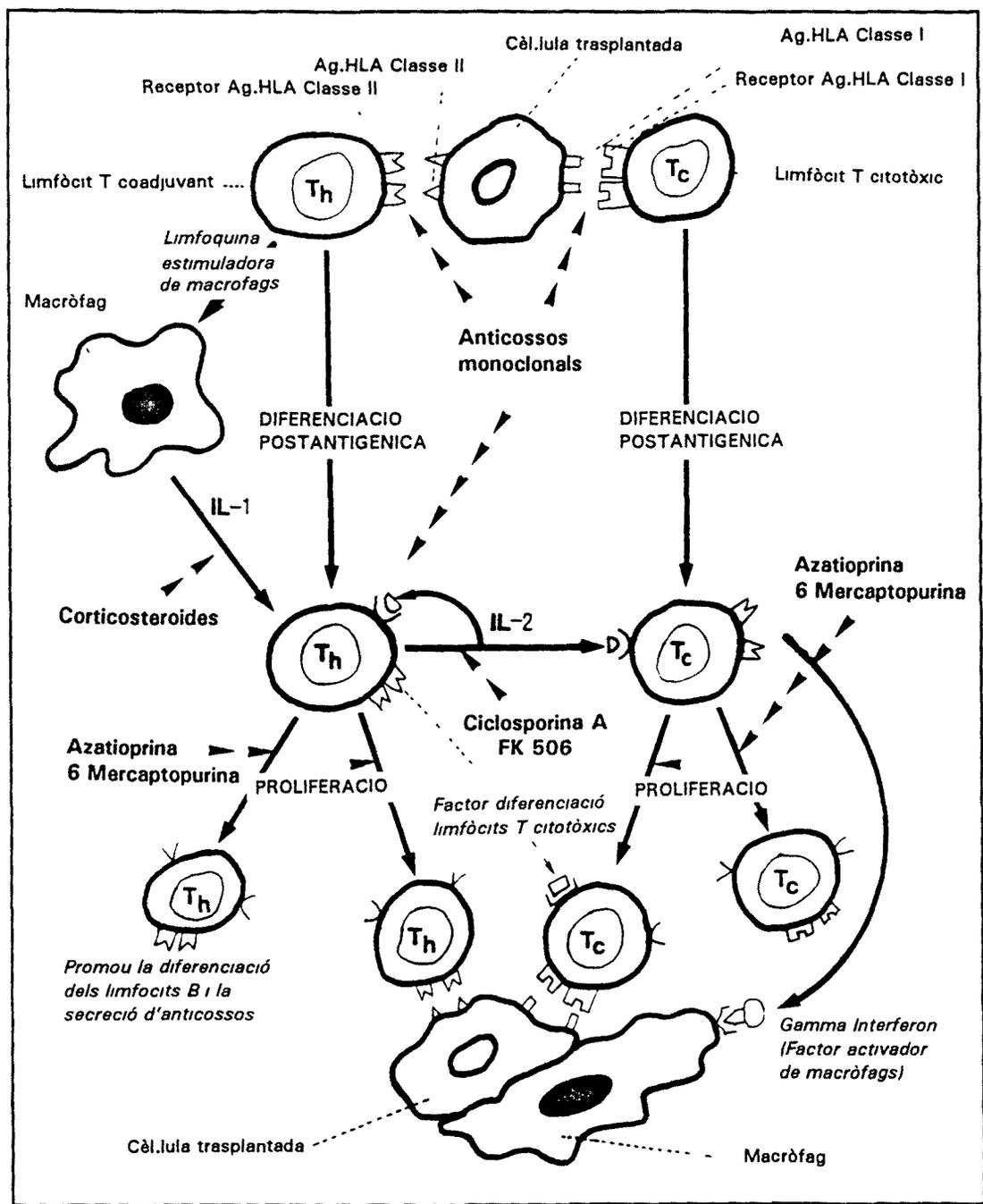


FIGURA 6: ACTUACIO DELS IMMUNOSUPRESSORS EN LA REACCIO DE REBUIG

#### **1.1.4.1. Immunosupressió amb Ciclosporina A**

La Ciclosporina A és un metabolit procedent dels fongs *Cylindrocarpon lucidum* i *Tolypocladium inflatum*, purificat l'any 1973 i que va mostrar les seves propietats immunosupressores tres anys més tard<sup>26</sup>.

La Ciclosporina A actua sobre la immunitat cel.lular per inhibició selectiva dels efectes dels limfòcits T<sup>26</sup>. L'acció sobre els limfòcits T es basa en la supressió de l'alliberament de la Interleuquina 2 en blocar la transcripció d'una sèrie de gens entre els quals es troba el propi gen de la IL2. Els mecanismes pels quals es produeix la inhibició d'aquesta transcripció no són ben coneguts, si bé es postula sobre la capacitat del complex de Ciclosporina A-Ciclofilina (CyP), la seva proteïna citoplasmàtica, per a blocar l'activitat de l'enzim isomerasa, el qual té un paper fonamental per a la transcripció del gen<sup>99,100</sup> (FIGURA 7).

Malgrat que la Ciclosporina A inhibeixi la producció d'IL2, no s'afecta però la sensibilitat dels receptors d'IL2 dels limfòcits T citotòxics i supressors per a llur proliferació en presència d'IL2 exògena preformada.

La Ciclosporina A també inhibeix la producció d'altres limfoquines com la Interleuquina 1 de les cèl.lules APC, el factor inhibitori de la migració dels macròfags (MIF), el factor d'activació dels macròfags (MAF), el gamma interferon i la Interleuquina 3, entre d'altres. La IL3 participa en la tolerància al trasplantament després de l'aplicació de règims curts de Ciclosporina A, en actuar com un factor de creixement dels limfòcits T supressors<sup>26</sup>.

Des que la utilització de la Ciclosporina A es va fer possible, nombroses modalitats per a la seva administració varen ser estudiades en els models animals. Les dosis de Ciclosporina A necessàries en les diferents espècies animals s'assenyalen a la TAULA 2<sup>26</sup>.

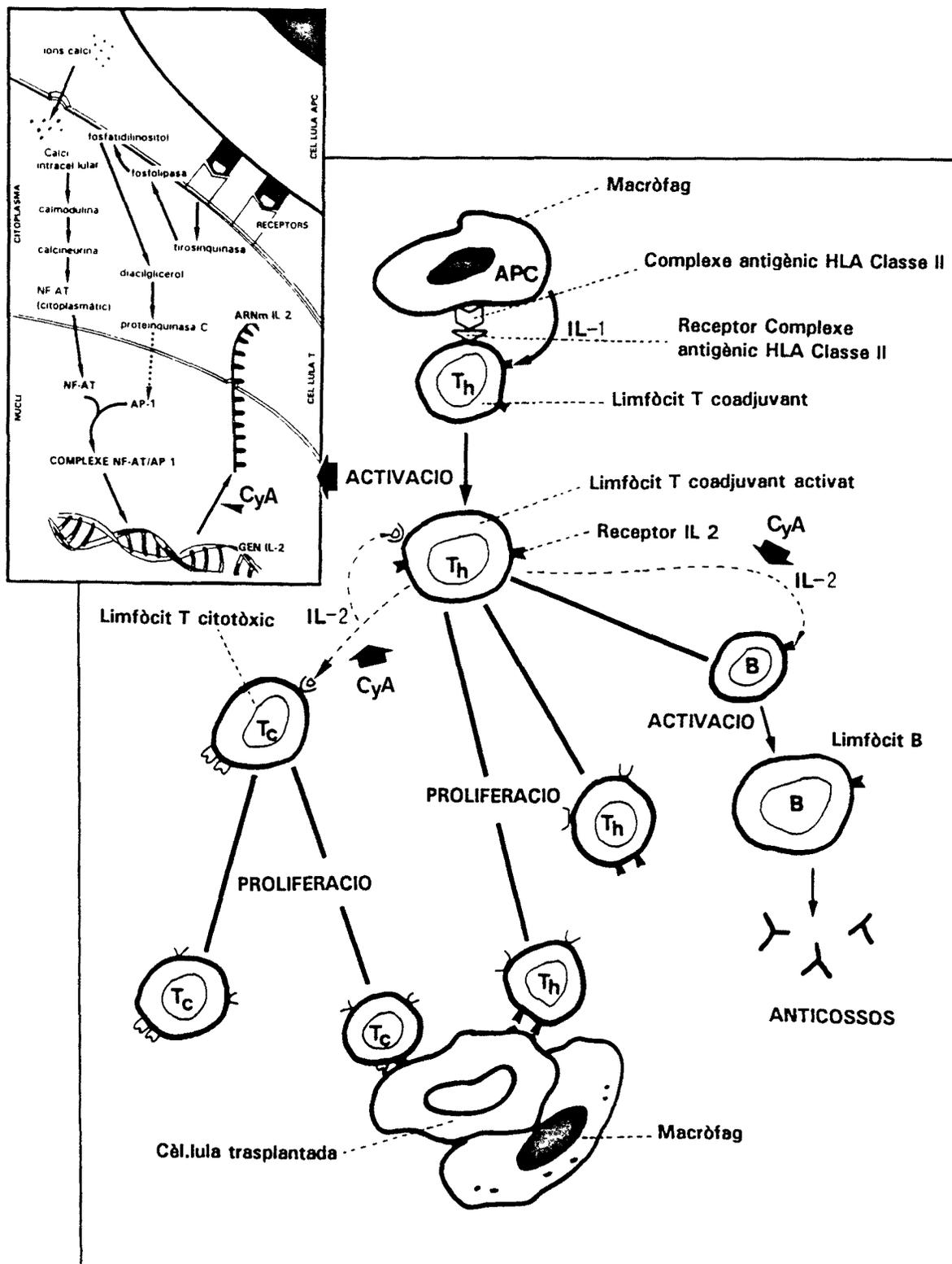


FIGURA 7: RESPOSTA IMMUNOLÒGICA AL TRASPLANTAMENT I CICLOSPORINA A

ESPECIE	TEIXIT TRASPLANTAT	CyA (mg/Kg)
Ratolí	Pell, medul.la, múscul	25-300
Rata	Pell, medul.la, fetge, pàncreas, illots pancreàtics, ronyó, cor, budell prim, membres	10-50
Conill	Pell, còrnia, ronyó, ovaris	15-25
Gos	Pell, medul.la, pàncreas, ronyó, cor, pulmó, budell prim	9-50
Porc	Cor, fetge	15-25
Mico	Ronyó, cor, cor i pulmó	10-50
Pollastre	Pell	25-50
Home	Ronyó, fetge, cor, cor i pulmó, pàncreas, medul.la	6-17

**TAULA 2: DOSI DE CICLOSPORINA A PER A LES DIFERENTS ESPECIES ANIMALS**

A la rata, la Ciclosporina A a dosi de 15mg/kg diaris durant 4 setmanes és capaç de controlar el rebuig<sup>101,102,103</sup>, però la micromorfologia del budell trasplantat no es mostra completament normal en alguns estudis. Així, les vellositats apareixen discretament escurçades i eixamplades, si bé les cèl.lules absortives conserven llurs característiques morfològiques. Addicionalment, s'hi observa la làmina pròpia amb un lleuger augment del nombre de cèl.lules limfoides<sup>75</sup>.

En els models de trasplantament de budell prim en animals grans, la Ciclosporina A administrada com a monoteràpia ha estat menys eficaç. Tampoc la combinació de la Ciclosporina A amb altres immunosupressors com la prednisona<sup>104</sup>, l'azatioprina i la globulina antilinfocítica no ha millorat significativament la supervivència del trasplantament intestinal en el gos<sup>29,105,106</sup>. El mateix s'ha observat en el porc aplicant la triple teràpia Ciclosporina A, azatioprina i prednisona<sup>107</sup>.

L'efecte de la Ciclosporina A és diferent segons la via d'administració utilitzada<sup>108</sup>, de manera que en un estudi fet amb gossos es va observar que la Ciclosporina A per via intramuscular a dosi de 25mg/kg/dia durant 4 setmanes i administrada després per via oral, era capaç d'allargar la supervivència dels receptors fins a una mitjana de  $103.8 \pm 39$  dies, mentre que els animals que la rebien només per via oral vivien una mitjana de  $30.4 \pm 7.6$  dies, havent-se observat que la supervivència dels gossos no tractats era de  $12.5 \pm 4.6$  dies<sup>109</sup>. Aquestes diferències es deuen a que el budell trasplantat és incapaç d'absorbir la Ciclosporina A quan s'inicien les alteracions del rebuig<sup>110</sup>.

Malgrat el restabliment de l'absorció de greixos als 14 dies de realitzat el trasplantament en el gos<sup>106</sup>, la determinació en sang dels nivells de Ciclosporina A després de l'administració oral mostra pics variables durant els primers dies postrasplantament, els quals s'estabilitzen passat un mes, però ho fan en nivells molt baixos<sup>111</sup>. L'administració de Ciclosporina A per via parenteral sembla millor per a la prevenció del rebuig ja que quan es dona per via oral, a més d'una eficàcia dubtosa, és necessària la utilització de dosis molt elevades per assolir uns nivells sanguinis adequats<sup>91,111</sup>.

En rates s'ha observat que l'absorció de Ciclosporina A pot ser diferent segons

el segment intestinal i en relació a la presència de bilis a la llum, i, s'ha comprovat que, si bé l'absorció de Ciclosporina A es realitza al tot el llarg del budell prim, aquesta és major a nivell proximal i sobretot a nivell de l'íleon distal<sup>112</sup>.

En el porc, per a la prevenció del rebuig es van precisar dosis de 15mg/kg/dia de Ciclosporina A via intramuscular durant 10 dies seguides de 30mg/kg/dia per via oral, però amb aquest règim d'administració només es va permetre una supervivència normal durant més de 100 dies de 7 porcs provinents d'una serie que constava de 16 animals<sup>113</sup>.

Els temps de supervivència mínims i màxims obtinguts en animals tractats amb Ciclosporina A en monoteràpia o combinada amb altres immunosupressors es detallen a la TAULA 3.

En rates, tot estudiant si era possible la immunosupressió efectiva amb Ciclosporina A a dosis baixes (2.5mg/kg/dia) quan aquesta s'associava a un altre mètode d'immunosupressió tal com la transfusió sanguínia específica o inespecífica, es va mostrar un allargament de la supervivència ( $60.3 \pm 36.2$  dies) per al trasplantament intestinal entre rates de soques pures ACI i BN sobre LEW<sup>114,115</sup>. L'addició a la Ciclosporina A de tècniques d'immunosupressió com la transfusió específica de leucòcits del donant irradiats amb raigs ultraviolats B, ha perllongat la supervivència de les rates receptores, però en elles s'ha donat una alta incidència de rebuig de tipus crònic<sup>116</sup>.

L'associació de la Ciclosporina A amb altres immunosupressors pretén evitar els seus efectes nefrotòxics i hepatotòxics en utilitzar-la a dosis més baixes que les requerides quan s'administra en forma de monoteràpia<sup>26</sup>.

AUTOR	MODEL	CyA(mg/Kg)/VIA	Tx ADJUVANT	SUPERVIVENCIA (dies)
Craddock <sup>109</sup>	Gos, heterotòpic	25 IM	-	9-432 (11 animals)
Díliz-Pèrez <sup>105</sup>	Gos, ortotòpic	17 VO	Prednisona	3-555 + (12 animals)
Aeder <sup>117</sup>	Gos, heterotòpic	40 VO	-	6-44 (5 animals)
	Gos, heterotòpic	20 VO 20 dies preop. + 40 VO postop.	-	10-41 (7 animals)
	Gos, heterotòpic	20 VO	Aza + ALG	9-22 (7 animals)
Raju <sup>106</sup>	Gos, ectòpic	17 VO	-	36-80 (8 animals)
	Gos, ectòpic	17 VO	Prednisona	48-78 (8 animals)
Ricour <sup>118</sup>	Porc, ortotòpic	25 IM	-	10-20 (6 animals)
	Porc, Thiry-Vella	25 VO	-	4 animals morts per rebuig als 5-15 dies. 9 porcs sacrificats entre 60-390 dies sense rebuig.
	Porc, ortotòpic	25 VO	-	11-95 (6 animals)
	Porc, ortotòpic	8 IV postop inicial + 25 VO després	-	100-200 (3 animals)
Hatcher <sup>101</sup>	Rata (LEWxACI)→LEW, heterotòpic	15 IM	-	2-56 + (11 animals)
Kenneth <sup>102</sup>	Rata (LEWxBN)→LEW, ortotòpic	15 IM	-	28 + (6 animals)

**TAULA 3: SUPERVIVENCIA DELS ANIMALS TRACTATS AMB CICLOSPORINA A DESPRES DEL TRASPLANTAMENT INTESTINAL**

En un intent d'evitar efectes tòxis, també s'ha estudiat la capacitat immunosupressora dels metabolits de la Ciclosporina A, tot observant que l'administració dels metabolits OL1, OL17 i OL18 a rates receptores d'un trasplantament intestinal heterotòpic ha estat efectiva i, a més a més, als 10 dies els animals sacrificats no han mostrat signes de rebuig ni de toxicitat hepàtica ni renal als exàmens histològics i hematològics<sup>119</sup>.

Si bé la Ciclosporina A constitueix la base de gairebé tots els protocols d'immunosupressió<sup>5</sup>, cal l'estudi d'altres fàrmacs immunosupressors pel control del rebuig en el trasplantament intestinal.

#### **1.1.4.2. Nous agents immunosupressors**

L'aplicació de nous fàrmacs immunosupressors sobre el trasplantament de budell prim es troba actualment en fase de recerca. Generalment, els efectes d'aquests fàrmacs es valoren en comparació amb els ja coneguts de la Ciclosporina A.

La 15-desoxispergualina, un metabolit del bacillus laterosporus que havia mostrat la seva capacitat per a inhibir el rebuig del trasplantament cardíac heterotòpic a la rata, va permetre una supervivència de més de 80 dies a rates LEW receptores d'un trasplantament intestinal heterotòpic des de rates de soca F344, sense mostrar rebuig ni toxicitat a l'examen postsacrifici<sup>120</sup>.

Una altra substància és el macròlid Tacrolimus, més conegut com FK506, un derivat bacterià que limita l'activació de les cèl.lules T i la mitogènesi, possiblement per un bloqueig de la producció d'interleukina 2 similar al de la Ciclosporina A però amb un mecanisme diferent i tampoc ben conegut<sup>99,121</sup>. El FK506 ha mostrat la seva activitat immunosupressora sobre el trasplantament de ronyó<sup>122</sup>, cor<sup>123</sup> i fetge<sup>124</sup> tant experimentalment com en el camp clínic<sup>125</sup>.

Sobre el trasplantament heterotòpic de budell prim del tipus nansa de Thiry Vella i en les combinacions donant-receptor entre rates de les soques pures LEW i ACI i els seus híbrids ACI x LEW F<sub>1</sub>, tot buscant les 3 varietats de resposta immunològica (rebuig, empelt-contra-hoste i forma mixta), el FK506 ha permès una viabilitat

funcional del budell fins a 30 dies postrasplantament. La supressió del tractament ha causat rebuig de tipus crònic i reacció empelt-contra-hoste en varies formes d'expressió<sup>126,127</sup>.

En el cas del trasplantament ortotòpic entre rates de les soques BN i LEW, el FK506 a dosi de 2mg/kg/dia per via intramuscular i durant només 4 dies, s'ha mostrat efectiu, amb una supervivència funcional superior als 180 dies en tots els 9 animals trasplantats excepte en un d'ells, mort per pneumònia. Als 6 mesos, les rates sobrevivents varen ser sacrificades sense que s'observessin signes de rebuig ni de reacció empelt-contra-hoste als exàmens del budell trasplantat, del fetge i de la melsa<sup>128,129</sup>.

El FK506 també ha estat eficaç en la prevenció del rebuig entre rates amb histo-incompatibilitat major, com és el cas de donadores de soca ACI o F344 sobre receptors LEW<sup>130,131,132</sup>.

La via d'administració del FK506 ha d'ésser diferent segons l'animal d'experimentació utilitzat. L'aplicació parenteral intramuscular és altament tòxica pel mico, el qual en canvi tolera correctament l'administració oral<sup>40</sup>.

La Rapamicina, un altre macròlid d'estructura molecular similar al FK506 i també amb mecanisme d'acció poc conegut<sup>133</sup>, ha estat aplicat en la prevenció del rebuig al trasplantament intestinal i s'ha obtingut una supervivència de  $36.0 \pm 10.8$  dies en rates LEW tractades amb dosis de 0.8mg/kg/dia IM<sup>134</sup>. Però quan la rapamicina ha estat administrada en l'animal donant, només s'ha observat un discret allargament de la supervivència<sup>135</sup>.

En el model de trasplantament intestinal al gos, s'ha provat el fàrmac RS-61443, un morfolinoetil-ester de l'àcid miocofenòlic, que inhibeix selectivament la síntesi de purina, tot afectant el metabolisme dels limfòcits<sup>136</sup>. El RS-61443 a la resposta immunològica, frena la producció d'anticossos, la resposta proliferativa dels limfòcits T i B i la generació de limfòcits T citotòxics, essent el seu efecte totalment reversible<sup>137</sup>.

L'administració del RS-61443 en el trasplantament renal al gos s'ha mostrat efectiva en combinació amb dosis baixes de Ciclosporina A i de prednisona<sup>138</sup>.

També sobre el trasplantament de budell prim ortotòpic i heterotòpic, la combinació del RS-61443 amb Ciclosporina A i esteroids ha mostrat un allargament del temps de supervivència dels gossos, si bé en el trasplantament ortotòpic alguns animals han presentat malnutrició, diarrea severa i una pèrdua de pes del 25%<sup>139</sup>.

Un altre agent immunosupressor, el Brequinar sodium, s'ha mostrat efectiu sobre la tolerància al trasplantament renal, cardíac i hepàtic<sup>140,141</sup> i s'ha provat sobre el trasplantament intestinal<sup>142</sup>. El Brequinar sodium dificulta la síntesi de DNA mitjançant l'inhibició específica de l'enzim dihidro-orotat deshidrogenasa, el qual és necessari per a la biosíntesi de pirimidina<sup>140</sup>.

L'observació de què aquest fàrmac potencia els efectes de la Ciclosporina A sobre el trasplantament hepàtic ha suggerit si el mateix es donaria en el cas del trasplantament intestinal. Així, tot utilitzant el model de trasplantament heterotòpic del tipus Thiry Vella i en combinació donant LBN sobre receptora LEW per a provocar el rebuig, s'ha observat que el tractament amb Brequinar sodium a dosis de 5mg/kg cada 3 dies via ostomia combinat amb Ciclosporina A a dosis de 0.5mg/Kg/dia via intramuscular, ha mostrat una viabilitat funcional del budell prim durant  $29.4 \pm 21.1$  dies, la qual ha estat inclús superior,  $54.0 \pm 42.8$  dies, quan la dosi del Brequinar sodium era només la meitat (2.5mg/kg/3 dies)<sup>142</sup>.

L'administració de dosis equivalents però en monoteràpia ha mostrat una supervivència de  $11.8 \pm 1.5$  per a la Ciclosporina A i de  $15.2 \pm 2.6$  per al Brequinar sodium, essent la del grup control no tractat de  $8.0 \pm 1.2$  dies.

En una orientació diferent, una forma de terapèutica per a reduir la immunogenicitat del budell a transplantar és a través de la deplecció dels antigens de classe II presents a leucòcits com les cèl.lules dendrítiques, macròfags i cèl.lules B. Aquesta deplecció pot realitzar-se mitjançant una perfusió vascular directa amb anticossos monoclonals específics contra alguns d'aquests elements cel.lulars. Així, l'hemoperfusió *ex vivo* durant 3 hores del budell prim de la rata amb una solució contenint OX41 i OX42, dos anticossos monoclonals (MAbs) provinents de la immunoglobulina G<sub>2a</sub> del ratolí anti-rata i dirigits respectivament cap a 3 polipèptids de cèl.lules dendrítiques i macròfags i cap a proteïnes de superfície d'aquestes

cèl.lules, és capaç d'inhibir la resposta del rebuig pel blocatge que suposa la desactivació de les cèl.lules esmentades<sup>143</sup>.

Altres nous fàrmacs amb efecte immunosupressor com la Castanospermina, la Leflunomida, SK&F 105685, o DAB 486, entre d'altres, encara no han estat aplicats al trasplantament intestinal i és difícil determinar amb seguretat quina teràpia arribarà a ser en el futur la més adequada pel trasplantament clínic del budell prim.

#### 1.1.5. TRACTAMENT DE LA REACCIÓ EMPELT-CONTRA-HOSTE

Si la reacció empelt-contra-hoste ve mitjançada per la presència d'elements immunocompetents al teixit trasplantat, és lògic pensar que la prevenció d'aquesta forma de resposta immunològica pot fer-se per la neutralització de tals elements.

Aquesta neutralització pot assolir-se per mètodes com la irradiació del teixit a trasplantar o l'administració de substàncies per a lesionar o blocar els seus limfòcits.

Schraut va demostrar que, a la rata, la irradiació *in vitro* del budell prim prèvia al trasplantament, prevenia la reacció d'aquest contra l'hoste<sup>91,144</sup>. En utilitzar el model de combinació donant LEW-receptora LBN, va observar l'efectivitat de 1000 rads de raig X sobre els limfòcits del budell prim a trasplantar, els quals quedaven inhabilitats funcionalment sense que es conegués el mecanisme de blocatge. Per a evitar lesions ràdiques de l'epiteli intestinal, la irradiació s'efectuava sobre el budell prim encara vascularitzat però exterioritzat i en ambient hipòxic<sup>81</sup>.

La irradiació pot prevenir la reacció empelt-contra-hoste però no actua vers el rebuig. Inclús la deplecció limfoide produïda per la irradiació no redueix la immunogenicitat del budell, ja que el budell prim conté gran quantitat de cèl.lules positives als antígens de classe II, com per exemple els macròfags o les cèl.lules dendrítiques, les quals són molt menys radiosensibles que els limfòcits però tenen un paper important en la resposta immunològica del rebuig<sup>145,146</sup>.

L'exèresi dels ganglis limfàtics mesentèrics s'ha mostrat efectiva com la

irradiació, però significa una interrupció del drenatge limfàtic del budell i, per tant, pot afectar la capacitat d'absorció de nutrients<sup>83</sup>.

El serum antilimfocític, quan s'administra *in vivo*, indueix una severa limfopènia a la sang i als teixits, amb una deplecció important dels limfòcits T circulants. Considerant tal acció, el serum antilimfocític administrat intraperitonealment per a tractar el budell donant, seria absorbit directament pels ganglis mesentèrics i eliminaria els limfòcits T del teixit intestinal, amb la qual cosa es podria prevenir la reacció empelt-contra-hoste després del trasplantament de budell prim. Sota aquesta hipòtesi es va realitzar un estudi en rates en el qual la tècnica explicada només va mostrar una certa efectivitat<sup>147</sup>.

Les transfusions específiques de limfòcits del donant administrades al receptor previament al trasplantament, no sols no han estat efectives, sinò que s'ha observat una acceleració de la mortalitat degut a reacció empelt-contra-hoste<sup>148</sup>. L'aplicació de radiació ultraviolada sobre aquests limfòcits que es transfundirien al receptor en la prevenció de la reacció empelt contra hoste encara és un tema en estudi<sup>82,149</sup>.

Fins ara, la Ciclosporina A ha mostrat una eficàcia limitada sobre la reacció empelt-contra-hoste. L'administració de Ciclosporina A durant períodes curts de temps pot arribar a controlar el rebuig, però no la reacció de l'empelt. En canvi, a dosis altes i perllongades, es pot prevenir l'aparició de la reacció empelt-contra-hoste, però no s'allarga el temps de supervivència degut als seus efectes tòxics.

La Ciclosporina A com a tractament immunosupressor únic pot no controlar ni el rebuig ni la reacció empelt-contra-hoste després del trasplantament intestinal entre rates de soques pures diferents (WAG sobre BN)<sup>150</sup>.

A més, l'administració a llarg termini de Ciclosporina A produeix una afectació del timus que lesiona les cèl·lules precursors dels limfòcits i condiona el desenvolupament d'una reacció que inclús simula la de l'empelt contra l'hoste<sup>151</sup>.

Dels altres immunosupressors com el RS61443<sup>152,153</sup>, la Deoxispergualina<sup>154</sup>, la Rapamicina<sup>133</sup> i el FK506 s'estan actualment valorant el seus efectes sobre la reacció empelt contra hoste, sense haver-se obtingut encara resultats conclouents.

### 1.1.6. EVOLUCIO DEL BUDELL TRASPLANTAT

Un altre problema a resoldre abans de poder aplicar amb seguretat el trasplantament intestinal al camp clínic és el seguiment evolutiu del budell trasplantat. A diferència del trasplantament d'altres òrgans, encara no existeix una prova per a determinar la integritat funcional del budell trasplantat.

#### **1.1.6.1. Monitorització histològica**

Les ostomies cutànies del budell trasplantat permeten una observació directa de l'aspecte de la mucosa intestinal, així com la presa de mostres per biòpsia. Fins ara, els canvis histològics observats a les biòpsies aporten informació sobre la fase de rebuig en què es troba el budell prim trasplantat i permeten l'adequació del tractament immunosupressor<sup>155</sup>.

La dificultat radica en detectar precoçment el rebuig en la seva fase inicial, única en la qual les lesions poden encara ser reversibles. L'aplicació dels anticossos monoclonals a les tècniques histològiques possibiliten la detecció de l'inici del rebuig degut a que la inducció provocada pels antigens MHC de classe II fa que aquests antigens s'expressin a tots els enteròcits de les bases de les criptes de Lieberkühn, mentre que l'epiteli de les vellositats resta negatiu i no mostra fixació fins al final de la fase I<sup>156</sup>.

Com que a les fases més primerenques del rebuig, les alteracions solsament s'observen a nivell de les capes submucosa i muscular, les biòpsies de mucosa no proporcionen suficient informació<sup>156,157</sup>. A més, degut a què l'afectació inicial de la mucosa es va desenvolupant en forma de plaques enlloc d'afectar uniformement la superfície, es requereixen múltiples mostres de mucosa per arribar a determinar la integritat o no del budell trasplantat<sup>76</sup>.

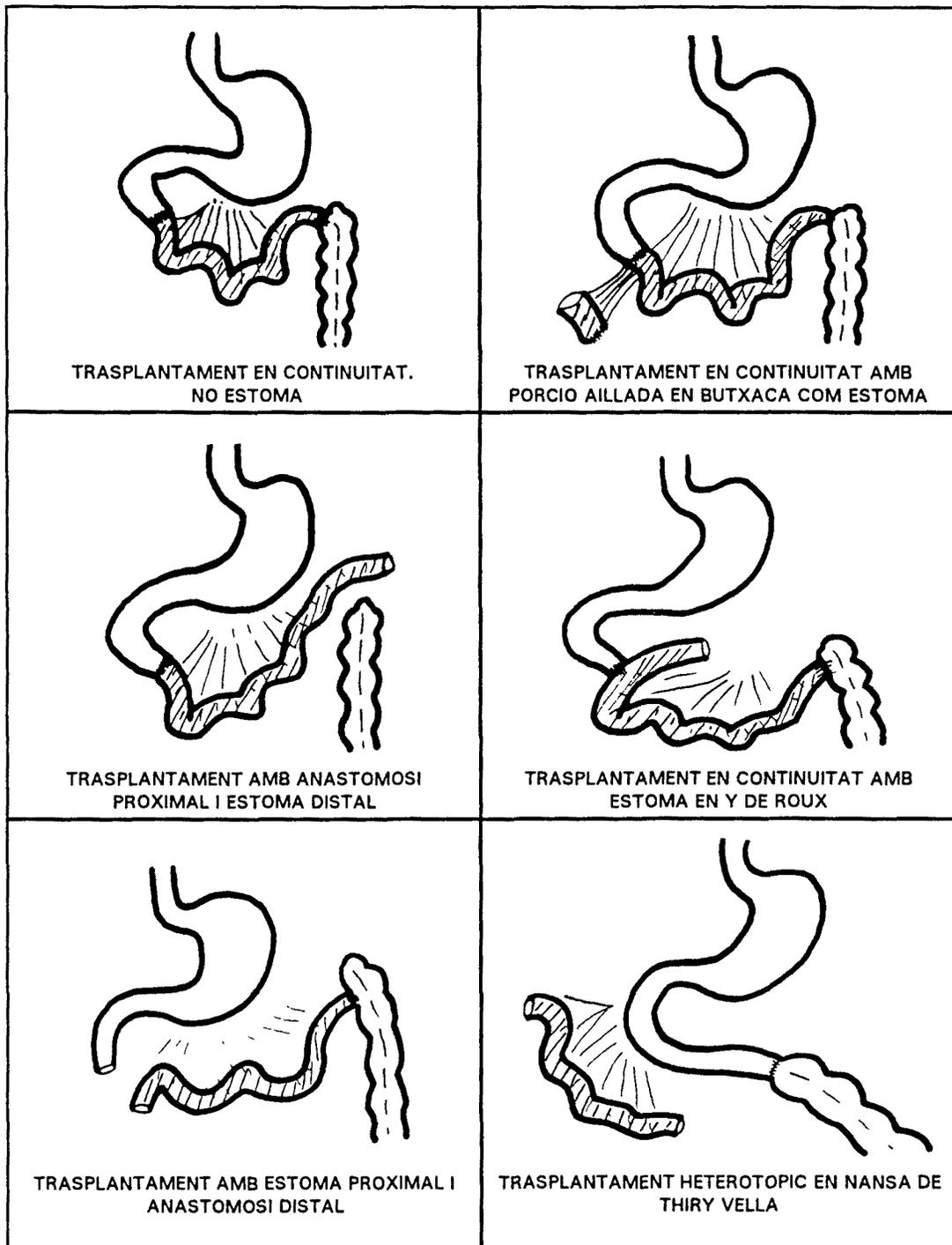
A tot això s'hi afegeix el fet de què l'obtenció de mostres de tot el gruix de la paret intestinal és impossible quan el budell està situat en posició ortotòpica, donat el risc de perforació que suposaria<sup>76,91</sup>. Tal fet ha requerit d'estudis relatius a la necessitat de deixar o no un estoma per a la monitorització histològica del budell trasplantat<sup>158</sup>.

En el cas del trasplantament heterotòpic, l'exteriorització d'un o els dos extrems del budell prim és òbvia, però pel trasplantament ortotòpic s'han ideat algunes tècniques que permeten l'observació directa del budell tal com es mostra a la FIGURA 8.

La tècnica del trasplantament ortotòpic deixant un segment curt del budell trasplantat fixat a la paret en forma de bossa o butxaca (*pouch*) permet una valoració dels canvis que es produeixen en el budell intern a través de l'observació directa i per biòpsia dels que apareixen a la zona exterioritzada<sup>91</sup>.

Però el fet de deixar estomes cutanis no està exempt de les complicacions pròpies d'aquestes disposicions tals com retraccions, prolapses, herniacions i pèrdues hidroelectrolítiques, si bé aquestes darreres no es donarien en el cas de l'ostomia en butxaca<sup>158</sup>.

En vista a les limitacions que suposa la monitorització histològica del budell trasplantat, s'han proposat variades proves per a la valoració de la seva viabilitat funcional.



**FIGURA 8:DISPOSICIO DELS EXTREMS INTESTINALS PER A LA VALORACIO DIRECTA DEL BUDELL TRASPLANTAT**

### 1.1.6.2. Funció absortiva del budell trasplantat

La valoració histològica és el mètode més comú per al seguiment evolutiu, però l'observació d'una micromorfologia intacta del budell prim trasplantat no reflecteix necessàriament la mateixa integritat de la funció absortiva<sup>76,159</sup>. Per a la determinació de la capacitat absortiva del budell prim postrasplantament s'han desenvolupat nombroses proves funcionals basades en l'absorció dels hidrats de carboni, aminoàcids i àcids grassos<sup>91</sup>.

L'absorció d'hidrats de carboni, i en particular la de glucosa i maltosa, ha estat analitzada en diferents estudis.

L'absorció de D-glucosa ha estat determinada en el trasplantament heterotòpic del tipus Thiry Vella mitjançant la perfusió a través de l'estoma proximal, de solucions isotòniques que contenen quantitats conegudes de glucosa. Aquesta determinació s'efectua tot restant a la concentració inicial de glucosa, aquella que s'observa en el líquid de sortida a l'estoma distal<sup>160,161</sup>. L'absorció de glucosa decreix progressivament en relació a l'atròfia histològica de les vellositats que pot mostrar el budell trasplantat<sup>162,163,164</sup>.

L'absorció dels disacàrids maltosa i lactosa també ha estat utilitzada en la monitorització del rebuig. Per a tal absorció es precisa de la integritat d'enzims de la vora en raspall dels enteròcits com la maltasa/glucoamilasa, sacarasa/isomaltasa i alcalinfosfatasa, les quals mostren una activitat anormal ja en les primeres fases del rebuig<sup>78,159,165,166</sup>.

La glucosa marcada amb C<sup>14</sup> també ha estat instil·lada a la llum intestinal i posteriorment s'ha determinat la seva presència en sang. En el gos, s'han observat pics de radiactivitat en plasma als 10, 15 i 30 minuts, els quals han estat en mitjana inferiors en el grup d'animals alotrasplantats que en els autotrasplantats, essent encara més baixos en els animals amb signes evidents de rebuig<sup>165</sup>.

Amb la mateixa tècnica per a la infusió de solucions a la llum intestinal en el trasplantament heterotòpic, els tests d'absorció d'aminoàcids com la glicina<sup>163</sup> o l'alanina<sup>167</sup>, també mostren un decreixement progressiu postrasplantament, al igual que l'absorció d'àcid oleic marcat amb C<sup>14</sup><sup>168</sup>.

Les mesures quantitatives i qualitatives dels lípids, proteïnes i glúcids a la femta permeten apreciar la qualitat funcional del budell trasplantat. A tots els animals receptors d'un trasplantament de budell prim tant isogènic com alogènic s'ha observat una excreció lipídica excessiva. Aquest defecte per a l'absorció dels greixos pot estar causat per la denervació extrínseca i la interrupció de les vies de drenatge limfàtic que suposa el trasplantament<sup>169</sup>.

Molts estudis han evidenciat el restabliment de la continuïtat anatòmica del drenatge limfàtic entre donant i receptor<sup>16,17,170</sup> però, malgrat això, la qualitat de l'absorció del budell trasplantat és inferior a la del budell normal i cal avaluar la importància encara poc coneguda de la denervació sobre aquest fet<sup>22</sup>. La pèrdua de la innervació extrínseca mostra efectes adversos sobretot per a l'absorció d'aigua i electròlits<sup>163,167</sup>. Aquest fet s'atribueix a la secció de fibres simpàtiques postganglionars, les quals, en condicions normals, inhibeixen la motilitat per afavorir el transport de nutrients a través de la mucosa<sup>171</sup>.

### **1.1.6.3. Distribució de les hormones gastrointestinals postrasplantament**

El trasplantament de budell prim causa severes alteracions en la capacitat secretora i absorbiva de la mucosa intestinal. Després del trasplantament, el budell prim queda temporalment denervat i perd així l'estímul dels nervis autònoms extrínsecs, de manera que només reb l'estimulació del quim intraluminal, el qual queda sota la influència de la innervació intrínseca. Els efectes de l'estímul intraluminal es reflecteixen en el manteniment de l'arquitectura de la mucosa i en la morfologia de les cèl.lules entero-endocrines.

Estudis amb tècniques immunohistoquímiques amb anticossos monoclonals contra colecistoquinina, neurotensina i pèptid intestinal vasoactiu han mostrat que, després del trasplantament intestinal heterotòpic es produeix una disminució de les cèl.lules positives a aquestes tres hormones tant al jejú com a l'fleum, tot coincidint amb una lleugera atròfia de les vellositats i de les criptes, en comparació amb el budell normal<sup>172,173</sup>.

Posteriorment a la inserció del budell trasplantat en continuïtat amb el tracte

gastrointestinal, el patró de distribució hormonal canvia de forma important i s'observa un augment de les cèl.lules positives a la colecistoquinina al jejú i a l'fleum, i un nombre augmentat de cèl.lules positives a la neurotensina a l'fleum, més elevat inclús que al budell normal. La quantitat de fibres positives al pèptid intestinal vasoactiu també s'incrementa, però sense arribar als valors normals. La mucosa del budell trasplantat ortotòpicament ja no mostra signes d'atròfia.

D'aquests fets es dedueix que l'estímul intraluminal, incloent el de les secrecions pancreàtica i biliar, participa de forma important sobre la resposta adaptativa del budell prim postrasplantament. L'estímul intraluminal pot reactivar les cèl.lules entero-endocrines a la mucosa del budell trasplantat i la interacció d'aquestes cèl.lules amb el sistema nerviós intrínsec sembla ser suficient per activar el desenvolupament de la mucosa i recuperar la funció intestinal.

L'observació dels nivells disminuïts de fibres positives al pèptid intestinal vasoactiu fa pensar en una manca de connexió entre el sistema nerviós intrínsec de la paret intestinal i les fibres del sistema nerviós autònom, però les característiques morfològiques que mostra la mucosa semblen indicar que la innervació extrínseca pot no ser indispensable per a mantenir el seu trofisme postrasplantament<sup>172,173</sup>.

#### **1.1.6.4. Flora intestinal i funció immune**

Després del trasplantament intestinal, la microflora del budell propi i del trasplantat interactuen fins l'establiment d'una població estable. Sota condicions normals, la barrera mucosa del budell és capaç d'evitar la sortida de bacteris i altres continguts intraluminals, però amb el trasplantament aquesta funció de barrera es veu alterada, tot resultant en una invasió bacteriana que l'hoste immunocompromès no és capaç d'aturar. Els bacteris traspassen la mucosa i arriben als ganglis limfàtics mesentèrics, tot possibilitant el desenvolupament d'una sèpsia<sup>174</sup>.

Estudis qualitius i quantitius han mostrat un augment de la flora intestinal de tipus aerobi gramnegatiu, la qual, en els animals tractats amb Ciclosporina A, pot també localitzar-se als ganglis mesentèrics<sup>175</sup>.

Es difícil determinar el tipus de microorganismes capaços de travessar la

barrera mucosa i si el pas es realitza en forma activa o passiva. En aquest sentit, s'ha observat que si bé l'*Eschaerichia coli* traspasa ràpidament la mucosa quan és instil.lada a la llum intestinal després d'una setmana del trasplantament, el pas de microesferes marcades amb Sn<sup>113</sup> no es detecta fins les 48 hores posteriors a la instil.lació, la qual cosa suggereix que cal un procés actiu per tal de traspasar la barrera mucosa<sup>176</sup>.

El teixit limfàtic de les plaques de Peyer i els ganglis mesentèrics, així com les immunoglobulines són molt importants per la defensa de la mucosa intestinal vers la intrusió de bacteris i antígens. La secreció d'immunoglobulina A queda marcadament disminuïda en el budell allotrasplantat quan aquest reb l'estímul antigènic de la toxina colèrica. Aquesta fallada no es pot relacionar ni amb la manipulació quirúrgica ni amb la disrupció limfàtica o neural, donat que els isotrasplantaments mostren nivells d'IgA conservats, ni tampoc al tractament immunosupressor amb Ciclosporina A, ja que aquest retarda però no afecta la secreció de la IgA<sup>177,178</sup>.

Els efectes del trasplantament sobre la funció immune de la mucosa intestinal són encara poc coneguts, però són de gran importància pel paper que hi juguen com a responsables de complicacions sèptiques provinents del budell trasplantat.

#### **1.1.6.5. Marcadors serològics del rebuig**

Encara no existeix un marcador serològic per a la monitorització del rebuig després del trasplantament intestinal. Actualment, els signes de rebuig s'identifiquen per l'estudi histològic, però als problemes que tal estudi representa s'afegeix el fet de què l'interval de temps des que s'hi observen els primers signes fins a la necrosi del budell és generalment curt.

L'increment dels valors serològics de la lactat deshidrogenasa (LDH) observat en relació amb el rebuig del trasplantament renal i cardíac va fer avaluar la seva aplicació al trasplantament intestinal en el porc. Però en els animals morts per causa del rebuig, els nivells de LDH es varen mantenir en uns valors basals, signe evident de la seva inutilitat com a marcador serològic per a la monitorització del trasplantament intestinal<sup>179</sup>.

Per altra banda, la N-acetil hexosaminidasa, la qual havia mostrat valors elevats en sèrum en relació amb la isquèmia intestinal i la necrosi<sup>180</sup>, també es va avaluar com a marcador serològic del rebuig en el model de trasplantament intestinal a la rata. Però l'activitat de la N-acetil hexosaminidasa es va mostrar elevada en només 2 de 5 rates i ho va fer entre les 24 i 48 hores previes a l'observació dels signes histològics de rebuig<sup>181</sup>.

Més recentment, s'ha valorat la concentració en sèrum del  $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$  provinent del metabolisme oxidatiu de la L-arginina. Com a resultat d'aquestes determinacions s'han obtingut uns nivells del  $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$  significativament elevats durant les fases inicials del rebuig a l'alotrasplantament intestinal a la rata. Aquest fet no apareix quan s'administra la teràpia immunosupressora, de manera que podria ser considerat com un marcador serològic del rebuig després de què es realitzin estudis més profunds<sup>182</sup>.

#### 1.1.6.6. Endoscòpia i ultrasonografia en el seguiment del budell trasplantat

Mitjançant un endoscopi de petit tamany dissenyat específicament per a la rata, s'ha pogut observar endoluminalment el curs del rebuig a través dels estomes de l'alotrasplantament heterotòpic del tipus Thiry Vella<sup>15</sup> i també per via recte-còlon en el trasplantament ortotòpic amb anastomosi distal íleum-còlica<sup>183</sup>.

Endoscòpicament s'han establert 4 estadis segons l'aspecte de la mucosa intestinal:

- Estadi I:** Al voltant del 3<sup>er</sup> dia postrasplantament, la mucosa presenta microerosions i pèrdua irregular de la fina xarxa capilar.
- Estadi II:** Les lesions observades a l'estadi anterior afecten ara tot el gruix de la mucosa.
- Estadi III:** Entre els dies 6 i 7, l'epiteli es mostra necrosat, amb múltiples ulceracions i enteritis hemorràgica.
- Estadi IV:** Després dels dies 10 a 14, el rebuig del budell és complet, amb necrosi total i plaques cicatricials de color blanc.

Aquestes dades endoscòpiques de la mucosa es corresponen amb la seqüència dels canvis histològics, de manera que l'endoscòpia del budell trasplantat es pot considerar com un mètode de diagnòstic útil per a la monitorització del rebuig<sup>15</sup>.

També l'aplicació dels ultrasons d'alta freqüència ha permès valorar les alteracions causades pel rebuig a la paret del budell prim trasplantat al porc<sup>184</sup>. Ultrasonícament, a la paret intestinal es diferencien 5 capes ecogèniques, les quals corresponen a la mucosa, submucosa, muscularis mucosae, muscularis pròpia i greix subserosal.

Els criteris ultrasonogràfics d'anormalitat es basen en la pèrdua dels plecs, disminució del nombre de capes ecogèniques amb discontinuïtat de les mateixes i aspecte homogeni del gruix de la paret. La distinció entre normalitat o no ha estat difícil pel que es refereix als dies 4 i 5 posttrasplantament, fet similar al que es dona en l'exàmen histològic.

La informació aportada per l'ultrasonografia pot ser potencialment útil per a la monitorització del budell prim trasplantat en el camp clínic.

### 1.1.7. APLICACIONS CLINQUES DELS ESTUDIS EXPERIMENTALS

Mitjançant els estudis experimentals s'han pogut avaluar els problemes principals relacionats amb el trasplantament de budell prim. Les diverses aportacions experimentals han permès superar total o parcialment les dificultats d'ordre tècnic (anastomosis vasculars de petit calibre, preservació del budell), d'ordre infeccions (trasplantament d'un òrgan sèptic) i, sobretot, d'ordre immunològic, de manera que s'ha fet possible l'aplicació clínic del trasplantament intestinal.

Els coneixements adquirits experimentalment en relació a les solucions de preservació, han mostrat que les solucions d'Eurocollins i de Wisconsin semblen les més adequades alhora del trasplantament clínic. Amb els models animals, sobre tot aquells que utilitzen animals grans, s'han pogut valorar les possibilitats i complicacions de les diferents tècniques quirúrgiques del trasplantament de budell prim, tot observant com l'evolució funcional del nou budell ve influenciada per factors

tals com el lloc d'implantació, en continuïtat o no amb el trànsit digestiu, la forma del drenatge venós porto-sistèmic o porto-portal i, sobre tot, per la resposta immunitària a que dona lloc aquest trasplantament.

Actualment, malgrat les aportacions experimentals de diversos mètodes per a realitzar el seguiment evolutiu del budell trasplantat, la forma de monitorització més fiable en el camp clínic és la basada en l'estudi histològic de la paret intestinal. Però, tal com ja ha estat esmentat en l'apartat corresponent a la funció absortiva, la integritat de la micromorfologia intestinal no sempre reflecteix la mateixa integritat de la funció absortiva, el restabliment de la qual seria l'objectiu bàsic del trasplantament.

Els pacients candidats al trasplantament de budell prim presenten una sèrie de trastorns produïts per la seva insuficiència intestinal que encara dificulten més l'evolució correcta del nou budell. El trasplantament intestinal hauria de mantenir l'estat nutricional d'aquests pacients de forma ilimitada, però les causes de la incapacitat per a la funció absortiva no han estat encara dilucidades.

## 1.2. SÍNDROME D'INSUFICIÈNCIA INTESTINAL FUNCIONAL

La síndrome del budell curt es pot definir com un estat de malabsorció provocat com a resultat de la pèrdua de la major part de la superfície absorbent intestinal. Aquesta pèrdua pot ser deguda tant a l'exèresi del budell prim com a processos que afectin l'absorció intestinal.

Les reseccions intestinals poc extenses no provoquen alteracions ostensibles de la funció digestiva, degut a què el budell remanent té prou capacitat absorbent per a compensar la pèrdua. En canvi, les reseccions massives comprometen la capacitat d'adaptació de tal manera que donen lloc a les alteracions fisiopatològiques i les manifestacions clíniques que caracteritzen, en conjunt, l'anomenada Síndrome del budell curt. Aquest quadre sindròmic consisteix fonamentalment en malabsorció amb diarrea intractable i esteatorrea, les quals deriven en una malnutrició progressiva calòric-proteïca, deshidratació i pèrdua de pes. Com a conseqüència d'aquestes alteracions es produeix un dèficit de proteïnes, àcids grassos, vitamines i oligoelements, així com anèmia, hiperoxalúria i tendència a l'acidosi metabòlica<sup>185,186</sup>.

Inicialment, es va considerar que les reseccions intestinals eren massives si abastaven una longitud superior a la tercera part del budell prim, considerant-se aquesta longitud com el màxim que un pacient podia tolerar de perdre<sup>187</sup>. A la dècada dels seixanta es va considerar que el grau d'insuficiència intestinal després de la resecció depenia més de la quantitat de budell remanent que de l'extret, adoptant-se des d'aleshores el terme de *budell curt* per anomenar aquesta síndrome.

### 1.2.1. ETIOLOGIA

Les causes més freqüents que obliguen a practicar reseccions extenses del budell prim són les que afecten a la seva vascularització tals com<sup>22,186,188</sup>:

- Isquèmia intestinal per embòlia o trombosi de les artèries mesentèriques.
- Infart intestinal per trombosi de les venes mesentèriques.
- Vòlvul del budell prim.
- Hèrnies externes o internes amb contingut intestinal estrangulat.
- Traumatismes abdominals amb avulsió dels vasos mesentèrics.

Altres causes menys freqüents són:

- Malalties inflamatòries com la malaltia de Crohn, les quals poden portar a la síndrome del budell curt degut a què durant la seva evolució abasten grans segments de budell prim dins un procés inflamatori recurrent i perllongat, el qual pot requerir massives o múltiples reseccions intestinals.
- L'exèresi de tumors retroperitoneals afectant els vasos mesentèrics pot precisar la resecció de part o de tot el budell prim segons la radicalitat de la cirurgia.
- En els lactants, l'enterocolitis necrotitzant o les anomalies congènites com la gastrosquisi, atrèsia jejúileal, atrèsia en peladura de poma o de Santulli, entre d'altres, portarien a la síndrome del budell curt.

A més de les etiologies esmentades, la insuficiència intestinal funcional també pot produir-se en pacients amb processos patològics extensos o múltiples que afectin l'absorció intestinal, tals com l'enteritis per irradiació o les fístules intestinals múltiples, en els quals la causa de la fallada funcional no ha estat la resecció intestinal massiva. També les derivacions intestinals com el *by pass* jejú-ileal destinat al tractament de l'obesitat mòrbida i l'hipercolesterolèmia, provoquen situacions fisiopatològiques de malabsorció similars a les de la síndrome del budell curt<sup>189</sup>.

Els processos que més freqüentment deriven en una resecció intestinal massiva segons les revisions realitzades en pacients adults per Simons<sup>190</sup> i Nightingale<sup>191</sup> es detallen a la TAULA 4.

1969, Simons<sup>190</sup>

MALALTIA	NºPACIENTS i %
Vòlvuls	22 (25%)
Trombosi artèria Mesentèrica Superior	22 (25%)
Embòlia artèria Mesentèrica Superior	12 (13.60%)
Neoplàsies	9 (10.22%)
Traumatismes	6 (6.81%)
Trombosi vena Mesentèrica Superior	5 (5.68%)
Hèrnia estrangulada	5 (5.68%)
Oclusió intestinal	4 (4.54%)
Malaltia de Buerger	1 (1.13%)
TOTAL 86 pacients	

1993, Nightingale<sup>191</sup>

MALALTIA	NºPACIENTS i %
Malaltia de Crohn	49 (58.3%)
Isquèmia	8 (9.52%)
Irradiació	8 (9.52%)
Colitis ulcerosa	5 (5.95%)
Vòlvuls	5 (5.95%)
Adherències	5 (5.95%)
Tumor desmoide	2 (2.38%)
Malaltia diverticular	2 (2.38%)
TOTAL 84 pacients	

TAULA 4: CAUSES DE RESECCIO INTESTINAL SEGONS AUTORS

La presentació del pacient amb budell curt depèn de factors com<sup>192,193,194,195</sup>:

- \* Extensió de la resecció intestinal.
- \* Zona reseçada proximal (jejú) o distal (íleum amb o sense còlon).
- \* Presència o no de la vàlvula íleumcecal.
- \* Funcionalitat del budell remanent, estómac, pàncreas, arbre biliar i còlon.
- \* Capacitat adaptativa del budell prim remanent.
- \* Malaltia de base que ha provocat la pèrdua intestinal.
- \* Influència de la malaltia de base sobre el budell remanent.

La mesura de la longitud del budell remanent després de la resecció és dificultosa i depèn del grau de contracció o relaxació de la paret intestinal<sup>196,197</sup>. A més, degut a problemes que pot presentar el budell prim després de la cirurgia (sèpsia, obstrucció, recurrència de la malaltia), les conseqüències simptomàtiques de la resecció intestinal massiva no es correlacionen amb la quantitat de resecció valorada intraoperatòriament<sup>185</sup>.

Generalment, la majoria de les reseccions intestinals no resulten en problemes importants de digestió i absorció degut a la gran capacitat de reserva funcional de la mucosa intestinal<sup>185</sup>. Una exèresi d'un 40% del budell prim, amb preservació del duodé, la meitat distal del íleum i la vàlvula íleumcecal, és tolerada correctament. En canvi, una resecció del 50% del budell prim ja comporta una malabsorció inicial rarament superable sense suport nutricional artificial. Si la pèrdua abasta el 75% o més del budell prim, només resta un budell remanent d'uns 70-100 cm i resulta en una insuficiència intestinal que precisarà d'aport nutricional especial i permanent, sobretot si se n'ha resecat l'íleum terminal i la vàlvula íleumcecal. La severitat dels símptomes després de la resecció intestinal massiva presenta una variabilitat pròpia per a cada pacient respecte el tamany de la superfície absorptiva mínima per a mantenir la vida sense suport nutricional artificial.

### 1.2.2. FISIOPATOLOGIA

Després de la resecció intestinal massiva, el budell inicia un procés d'adaptació per a l'absorció d'aigua, electròlits i nutrients en les noves condicions.<sup>198,199</sup>

Aquesta adaptació es caracteritza histològicament per una hiperplàsia de l'epiteli intestinal, acompanyada o no d'hipertròfia, de manera que s'observa un augment del número total de cèl.lules a la mucosa intestinal al qual correspon freqüentment un increment net de la funció intestinal absorptiva<sup>200</sup>.

Les conseqüències fisiopatològiques de les reseccions intestinals deriven de l'afectació que produeixen sobre la motilitat i l'absorció de nutrients.

#### **1.2.2.1. Conseqüències de la resecció intestinal sobre la motilitat**

Les alteracions de la motilitat que es produeixen després de la resecció depenen de la zona i extensió d'aquesta. Com a conseqüència d'una resecció proximal, es perd la inhibició sobre el buidament gàstric del quim i aquest passa ràpidament al budell prim remanent. Malgrat això, el trànsit intestinal encara es manté degut a l'enlentiment que es produeix a nivell del íleon.

Si es tracta d'una resecció distal, es perd la capacitat ileal d'enlentir el trànsit, de manera que les reseccions jejunal són millor tolerades que les ileals<sup>188,191,201,202</sup>. A més a més, en perdre l'íleon, també es perd el reflexe íleon-gàstric i encara s'accelera més el buidament gàstric<sup>193</sup>.

La freqüència augmentada de les ones peristàltiques contribueix a la diarrea que es produeix en els malalts amb síndrome del budell curt inclús en dejú.

La vàlvula íleoncecal és molt important per l'enlentiment del trànsit intestinal, i la seva pèrdua comporta greus alteracions. Quan les reseccions contempen també el còlon, res no atura el trànsit intestinal. Com a conseqüència de tot això, es redueix el temps de contacte a la llum intestinal entre els nutrients, els enzims intestinals i les secrecions pancreàtiques i biliars.

### 1.2.2.2. Conseqüències de la resecció intestinal sobre l'absorció de nutrients

**Reseccions duodenals:** Es poc freqüent abastar el duodé en una resecció intestinal, però, en casos amb duodenectomia, es produeix malabsorció de calci, àcid fòlic i ferro<sup>193</sup>.

**Reseccions jejunals:** Les reseccions proximals resulten en una diarrea moderada degut a que l'íleon i el còlon poden reabsorbir l'excés de fluids i electròlits. Però, en cas de reseccions massives, decreix l'activitat de l'enzim lactasa i es produeix intolerància a la lactosa. Aquesta lactosa no hidrolitzada roman a la llum intestinal, amb la qual cosa augmenta l'osmolaritat del contingut i, a més, com que és fermentada pels bacteris del còlon, es forma àcid làctic que encara empitjora la diarrea osmòtica<sup>193,203</sup>.

Amb una jejunectomia aïllada, en preservar l'íleon, es produeix un defecte transitori de l'absorció de proteïnes, carbohidrats i electròlits. Aquest fet es degut a que existeixen receptors per aquests nutrients a tot el llarg del budell prim, de manera que l'íleon pot compensar la pèrdua de superfície absorptiva<sup>204</sup>.

Donat que les enterohormones com la colecistoquinina i la secretina són secretades al jejú, després d'una jejunectomia es produeix una minva en llur secreció, amb la subsegüent disminució en la contracció vesicular i la secreció pancreàtica<sup>185</sup>.

També la jejunectomia afavoreix una hipersecreció àcida gàstrica major que la que es donaria després de la resecció ileal, essent el volum de secreció àcida proporcional a la longitud del segment resecat. Aquest fet té lloc perquè la manca de secreció jejunal del polipèptid inhibidor gàstric i del polipèptid intestinal vasoactiu comporta una elevació dels nivells de gastrina, tot estimulant-se la secreció gàstrica i produint-se una hiperplàsia de les cèl·lules de la mucosa gàstrica, la qual afecta tant a les cèl·lules parietals com als altres tipus cel·lulars<sup>205,206,207</sup>.

**Reseccions ileals:** Una exèresi important o total de l'íleon deriva en una gran malabsorció i diarrea, no sols causades pel gran volum de fluids que arriba al còlon, sinó també a que, segons el nivell de la resecció, se n'elimina la zona absorptiva específica per a les sals biliars i la vitamina B<sub>12</sub>.

La pèrdua de la capacitat d'absorció de sals biliars provoca una malabsorció de greixos i vitamines liposolubles, amb diarrea colarèica (femta amb sals biliars) i esteatorrea. L'alteració de la circulació enterohepàtica de sals biliars origina la formació d'una bilis litògena, la qual augmenta la freqüència de litiasi biliar en pacients amb resecció ileal en més del doble que la de la població normal<sup>208</sup>.

Concomitant a l'esteatorrea es produeix un dèficit d'absorció de vitamines liposolubles, sobre tot de vitamina K, amb el consegüent dèficit de síntesi dels factors de coagulació vitaminodependents. La presència de dipòsits orgànics normals fa que el dèficit de vitamina B<sub>12</sub> no es manifesti fins 2 a 5 anys després de la resecció ileal i, aleshores, ho fa amb una clínica d'anèmia megaloblàstica i neuropatia perifèrica<sup>209</sup>.

Com que ja en condicions normals, el trànsit intestinal és més lent a nivell de l'íleon, la quantitat de femta serà menor com més longitud d'íleon es preservi de la resecció.

La diarrea associada a la hipersecreció àcida es produeix fonamentalment per tres raons: una descàrrega important de líquids i electròlits al budell prim curt, una esteatorrea per la inactivació de la lipasa pancreàtica deguda al pH menor de 5 del contingut intraluminal i enteritis per àcid que lesiona la mucosa ja des de la zona gàstrica distal<sup>185,208</sup>.

Actualment s'ha pogut observar que aquesta hipersecreció àcida que apareix després de la resecció intestinal és transitòria en humans i cedeix en forma espontània<sup>208</sup>.

**Reseccions abastant la vàlvula íleoncecal:** Si s'ha resecat també la vàlvula íleoncecal, s'afavoreixen més les alteracions metabòliques i hidroelectrolítiques. La vàlvula íleoncecal, a més d'enlentir el trànsit intestinal, evita el reflux bacterià des del còlon cap al budell prim. Els nutrients que arriben a la llum intestinal, sobretot la vitamina B<sub>12</sub> serveixen de substrat al metabolisme bacterià, de manera que la flora colònica dins el budell prim competeix amb la mucosa intestinal per a l'absorció d'aquests nutrients<sup>193</sup>.

Els bacteris del còlon, refluïts cap al budell prim, desconjuguen les sals biliars

no absorbides per la manca d'íleon. Aquestes sals desconjugades, a més de dificultar l'absorció d'aigua i sodi al còlon, estimulen la secreció d'aigua, agreujant més les pèrdues diarrèiques<sup>185,209</sup>.

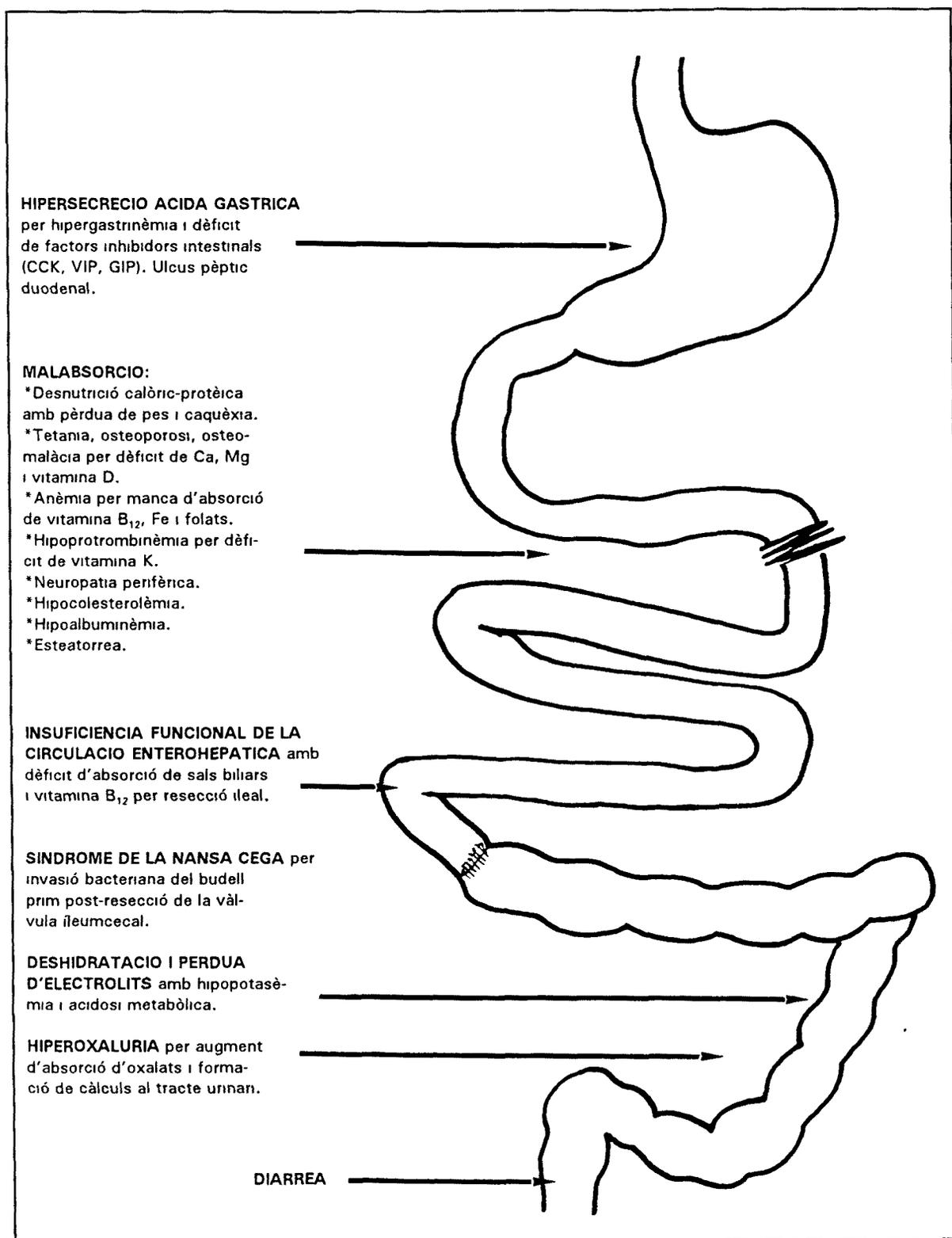
Un altre factor que també intervé en el volum de pèrdues fecals és el tipus de reconstrucció de la continuïtat intestinal després de la resecció. Si el còlon s'anastomosa en continuïtat amb el budell prim remanent, l'efecte serà el mateix que l'explicat per la manca de vàlvula íleocecal<sup>185</sup>.

**Reseccions colòniques:** Quan augmenta el volum de fluid que arriba al còlon, aquest és capaç d'augmentar la seva capacitat absorbiva<sup>210</sup>. Com que el còlon també té una moderada capacitat per absorbir nutrients, les reseccions que l'inclouen agreugen el quadre simptomàtic i nutricional dels pacients.

Els carbohidrats malabsorbits que arriben al còlon són fermentats pels bacteris per a produir àcids grassos de cadena curta, sobre tot acetat, butirat i propionat<sup>211,212</sup>, els quals poden ser absorbits pel còlon en quantitats superiors a les 500 Kcal/dia i passar a la circulació portal per a ser utilitzats com a reserva energètica<sup>213</sup>.

La retenció del contingut intestinal per part del còlon és desitjable, però també pot donar lloc a complicacions. En pacients amb còlon preservat que pateixen d'esteatorrea, el calci s'uneix als àcids grassos, de manera que l'oxalat queda lliure i, en lloc de restar insoluble i inabsorbible a la llum intestinal, és absorbit pel còlon en grans quantitats, amb risc de produir litiasi renal per càlculs d'oxalat càlcic<sup>200</sup>.

Les alteracions derivades de les reseccions intestinals als diferents nivells s'esquematitzen a la FIGURA 9<sup>186,209</sup>.



**FIGURA 9: FISIOPATOLOGIA DE LA SINDROME DEL BUDELL CURT**

### 1.2.3. PERSPECTIVES ACTUALS DE TRACTAMENT DE LA INSUFICIENCIA INTESTINAL

El quadre clínic posterior a la resecció intestinal segueix un curs evolutiu en el qual es poden distingir tres períodes amb una terapèutica adaptada per a cadascun d'ells<sup>185</sup>.

#### **1.2.3.1. Períodes terapèutics**

##### PERIODE POSTOPERATORI IMMEDIAT

Durant els primers dos mesos del postoperatori de la resecció intestinal, el quadre clínic es caracteritza sobretot per problemes relatius a la pèrdua de fluids i electròlits, a més d'altres complicacions pròpies de la cirurgia intestinal (dehiscències de sutures, abscessos intraabdominals, fistulitzacions, oclusions, etc).

##### PERIODE D'ADAPTACIO INTESTINAL

En el segon període, de 2 mesos a 2 anys des de la resecció, es produeix l'adaptació funcional intestinal, la qual pot assolir un 90-95% del seu màxim grau potencial.

Molts pacients, generalment arriben a una adaptació intestinal suficient després d'un any de precisar suport nutricional artificial, sobretot per via parenteral. Per tal que aquesta adaptació sigui el més completa possible, és necessària la presència de nutrients, hormones intestinals i secrecions pancreàtiques i biliars a la llum intestinal<sup>208</sup>. La hiperplàsia de les cèl.lules epitelials que es produeix per augmentar-ne la funció absortiva, pot no donar-se en absència de nutrició enteral i, inclús, aparèixer un cert grau d'atròfia quan tota la nutrició es fa via parenteral<sup>214,215</sup>.

La nutrició enteral és necessària per a induir l'adaptació intestinal i sembla haver-n'hi almenys 3 mecanismes pels quals els nutrients intraluminals estimularien aquesta adaptació<sup>188</sup>.

\* Estímul de la hiperplàsia per contacte directe dels nutrients intraluminals amb les cèl.lules epitelials<sup>216</sup>.

\* Estímul de la secreció d'hormones amb capacitat per a mantenir el trofisme

epitelial, tals com la gastrina<sup>217,218</sup> i l'enteroglucagó<sup>219</sup>.

\* Estímul de secrecions digestives, també amb efecte tròfic, tals com les secrecions pancreàtiques i biliars, capaces d'induir hiperplàsia a les vellositats intestinals<sup>200</sup>. La colecistoquinina i secretina tenen efectes sobre la reproducció dels enteròcits de manera indirecta, tot estimulant les secrecions pancreàtic-biliars<sup>208</sup>.

Per tot això, si bé la nutrició parenteral és indispensable per a mantenir l'estat nutricional durant les primeres fases postresecció, també sembla essencial una introducció gradual d'alimentació enteral, per anar-la reemplaçant progressivament<sup>188</sup>. Més tard, si l'evolució és favorable, es poden administrar nutrients per via oral, de manera que, tot valorant la seva tolerància, es pugui formular una dieta oral efectiva individualitzada per a cada pacient amb budell curt<sup>185</sup>.

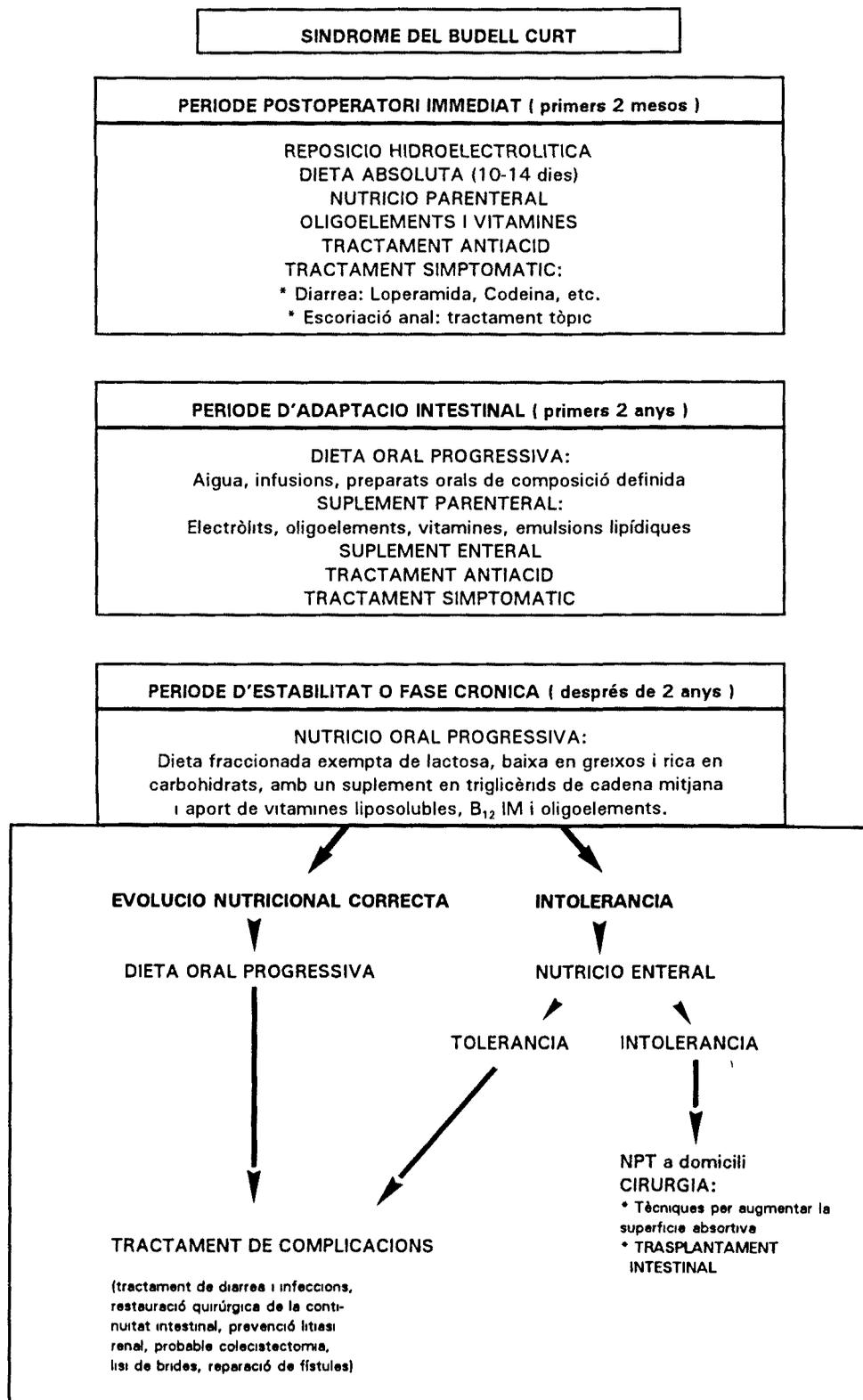
### PERIODE D'ESTABILITAT

El tercer període, o de tractament a llarg termini, correspon ja a l'estabilitat metabòlica i nutricional a la qual s'arriba després dels 2 anys de la resecció.

En aquest període pot donar-se que el pacient toleri la ingesta oral en forma suficient i només requereixi de suport nutricional artificial com a suplement.

Però també pot succeir que aquest suport nutricional per via parenteral, dieta especialitzada via enteral o una combinació d'ambdues sigui indispensable per a mantenir el seu estat nutricional de per vida. En aquests casos cal considerar un tractament quirúrgic efectiu.

La TAULA 5 esquematitza el maneig dels pacients amb síndrome del budell curt durant els 3 períodes terapèutics assenyalats<sup>185,220</sup>.



**TAULA 5: MANEIG DEL PACIENTS AMB SINDROME DEL BUDELL CURT**

### 1.2.3.2. Tractament quirúrgic

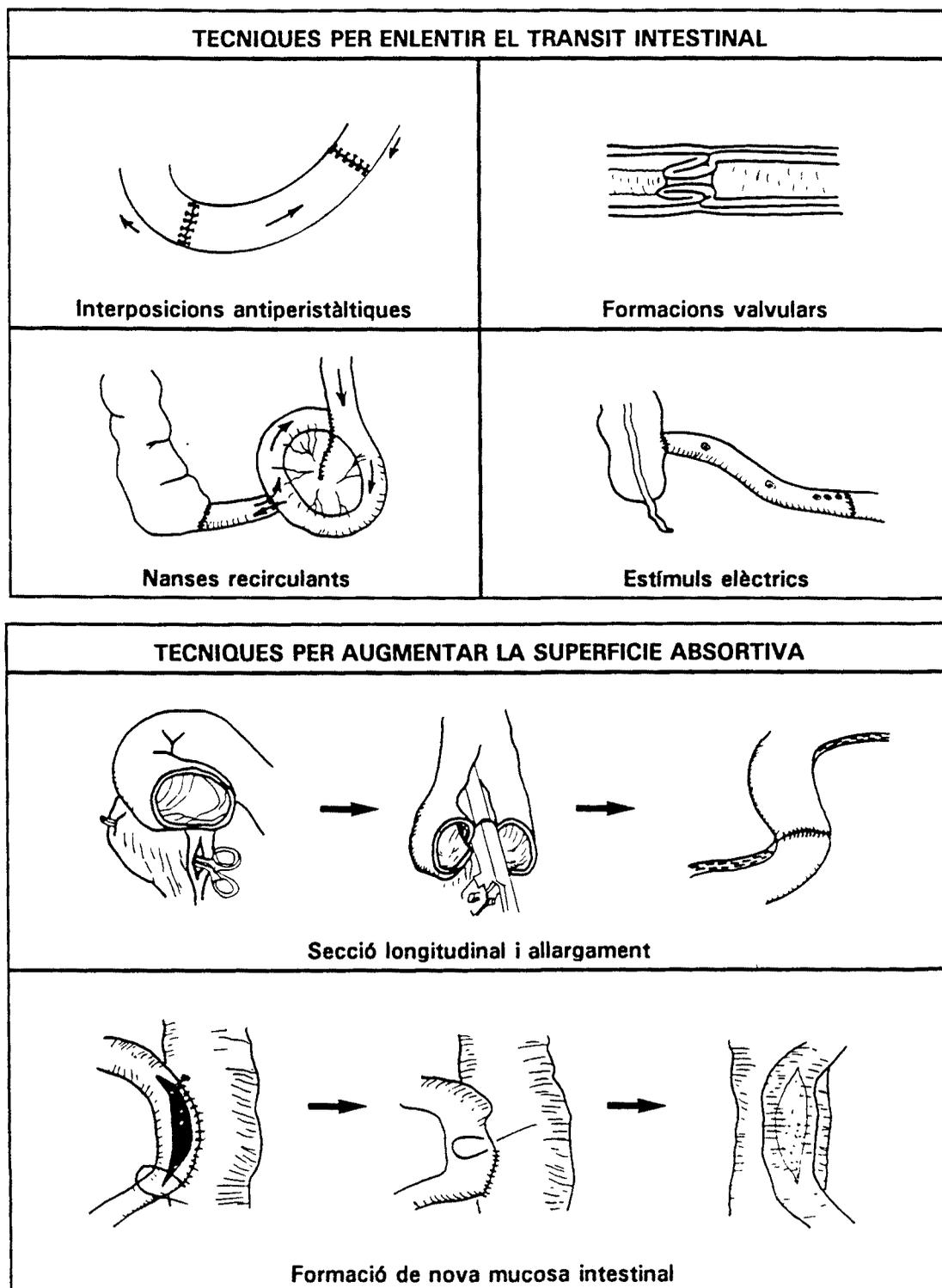
Existeix desacord entre els cirurgians sobre procediments quirúrgics que es podrien realitzar al mateix temps de la resecció intestinal, donat els resultats poc homogenis obtinguts<sup>185,221,222</sup>.

Com que durant el període d'adaptació explicat abans, es pot arribar a assolir freqüentment una absorció suficient de nutrients, es considera que la realització de procediments quirúrgics simultanis a la resecció intestinal pot disminuir un potencial grau d'adaptació funcional. Així, per exemple, la vagotomia o altres tècniques destinades a reduir la hipersecreció àcida gàstrica i de gastrina postresecció, es reserven pels malalts que desenvolupen problemes pèptics refractaris al tractament mèdic i no s'han de realitzar com a procediment quirúrgic rutinari durant la mateixa intervenció de la resecció, ja que, tal com hem dit anteriorment, aquest problema pot cedir de forma espontània<sup>185</sup>.

Perllongada ja la insuficiència intestinal fins el seu tercer període, cap tècnica quirúrgica en concret no es pot recomanar com d'elecció per augmentar la capacitat d'absorció, i la seva indicació ha de ser molt cuidadosa, tot pensant que el seu fracàs resultarà en més longitud encara de budell resecat<sup>191</sup>.

A la FIGURA 10 es resumeixen algunes estratègies quirúrgiques destinades bé a enlentir el trànsit intestinal o bé a augmentar l'àrea d'absorció<sup>185,191,223</sup>. Aquestes tècniques s'hauran de contemplar només en pacients als quals, malgrat un període mínim de 6 a 12 mesos de nutrició parenteral total, no s'observa un grau significatiu d'adaptació intestinal<sup>220,224</sup>.

Durant els darrers anys, les tendències quirúrgiques s'han dirigit cap a la utilització de segments intestinals col.locats en interposició, en sentit antiperistàltic i en una o varies localitzacions, en un intent d'enlentir el trànsit del contingut intestinal. Per les interposicions de budell prim s'utilitzen segments amb una longitud màxima de 10-15 cm, ja que s'ha observat que segments més llargs i col.locats en sentit antiperistàltic o invertit tenen tendència a obstruir-se<sup>185,191</sup>. Les interposicions de budell prim s'han dut a terme en pacients infants i adults amb resultats variables<sup>225,226,227,228</sup>.



**FIGURA 10: TRACTAMENT QUIRURGIC DE LA SINDROME DEL BUDELL CURT**

Les interposicions amb còlon han estat realitzades en nens, però amb una evolució poc satisfactòria<sup>229</sup>.

La creació de formacions valvulars destinades a enlentir el trànsit intestinal es realitza bé per intususcepció del jejú remanent dins el còlon<sup>203</sup>, o bé del còlon dins el budell prim distal<sup>230</sup>. Però d'aquesta tècnica es té més experiència en el camp experimental que en el clínic<sup>231</sup>.

Malgrat el benefici que suposa l'enlentiment del trànsit intestinal, el fet de crear una obstrucció al pas del contingut alimentari pot arribar a produir una estasi d'aquest, amb la consegüent proliferació bacteriana i disminució de l'absorció, motius que fan qüestionables les tècniques d'aquest tipus<sup>185,188</sup>.

La creació de nanses recirculants de budell prim pretèn perllongar el temps de contacte entre els nutrients i la mucosa, però porta associat el risc d'una síndrome de la nansa cega, a més de les complicacions pròpies de les anastomosis intestinals múltiples, i no és aconsellable realitzar-la<sup>191,208,224,232</sup>.

Una altra forma d'enlentir el pas del contingut intestinal és la creació d'un peristaltisme intestinal retrògrad mitjançant la col·locació de marcapasos (retrograde electrical pacing). D'aquesta manera s'ha observat experimentalment un increment de l'absorció d'aigua, glucosa i sodi, quan han estat realitzades en gossos<sup>233</sup>, així com una disminució del greix fecal i una reducció de la pèrdua de Nitrogen<sup>191,232</sup>. En un pacient adult s'ha observat una discreta millora amb l'aplicació d'aquesta tècnica<sup>224</sup>.

Els procediments quirúrgics destinats a augmentar la superfície d'absorció inclouen tècniques com la de duplicar la llargada del budell, tot fent una secció longitudinal del mateix de forma que es conservi l'aport sanguini mesentèric a cada meitat del budell i col·locant una línia de sutura per tal de formar dos tubs intestinals més estrets però amb doble llargada. Els resultats amb aquesta tècnica han estat satisfactoris, però, tot considerant el risc de fallada de sutura i d'obstrucció, s'hauria de reservar per a casos molt seleccionats en els quals el diàmetre del budell remanent permeti aquest tipus de duplicació<sup>191,224,232,234,235,236</sup>.

Experimentalment, s'ha provat de crear nova mucosa mitjançant la col·locació de pegats de serosa o de múscul de la paret abdominal sobre enterotomies

practicades a tal efecte. Aquests pegats es van cobrint per mucosa nova que es va formant a partir de la ja existent<sup>237,238,239,240</sup>. Encara que la nova mucosa sembla funcionar correctament, no hi ha fins ara experiència clínica sobre aquest procediment<sup>191</sup>.

Davant tota aquesta problemàtica, les indicacions de totes aquestes tècniques han de ser molt meditates<sup>209</sup>. El tractament actual de la síndrome del budell curt es limita encara al control de la diarrea i la prevenció de la deshidratació i la desnutrició.

La solució més lògica per a totes les complicacions que presenten els pacients que pateixen d'insuficiència intestinal seria el trasplantament de budell prim. Però aquest no ha tingut, fins el present, el destí dels altres trasplantaments ja que tots els factors que intervenen durant el trasplantament intestinal poden influir negativament sobre la capacitat funcional de la mucosa.

### **1.2.3.3. Pronòstic dels pacients amb síndrome del budell curt.**

#### **Indicacions i contraindicacions del trasplantament intestinal**

La supervivència dels pacients dependents de la Nutrició Parenteral és del 65 al 80% als 3 anys de la ressecció<sup>241</sup>. La malaltia de base i les complicacions relacionades amb la presència permanent del catèter venós central són els principals factors que influeixen en aquesta supervivència. Els pacients amb malalties isquèmiques intestinals, enteritis per irradiació i trastorns crònics de la motilitat intestinal presenten una mortalitat del 20% durant els primers dos anys d'instauració de la Nutrició Parenteral. En canvi, el pronòstic és millor pels pacients pediàtrics i pels afectes de Malaltia de Crohn, els quals presenten unes taxes de mortalitat del 10 i del 5% respectivament també durant aquest període de dos anys.

Les complicacions relacionades amb la Nutrició Parenteral, sobretot disfuncions hepàtiques i sèpsies relacionades amb el catèter, representen les principals causes de mortalitat en els pacients pediàtrics<sup>241,242,243,244,245</sup>, mentre que en els adults, la malaltia de base constitueix la principal causa de complicacions i la Nutrició Parenteral per si mateixa només representa un moderat risc sobreafeït<sup>241</sup>.

En relació a la qualitat de vida, els pacients adults requereixen una mitjana de

dues hospitalitzacions per any motivada almenys una d'elles per complicacions relacionades amb el catèter, sobretot sèpsies. Els pacients pediàtrics registren una mitjana de quatre ingressos anuals, la meitat d'ells deguts a complicacions pròpies del catèter com sepsia, infecció localitzada, oclusió o problemes posicionals<sup>242</sup>.

A més de les hospitalitzacions, cal considerar que la pèrdua de la capacitat per a l'ingesta oral, la dependència permanent d'un mitjà extern per a mantenir l'estat nutricional, la necessitat d'atenció constant per part dels familiars, la percepció d'alteracions de l'imatge corporal degudes a la cirurgia o relatives a la presència de l'aparell i accessoris necessaris per a la nutrició resulten en un gran estrès tant pels pacients com pels qui els envolten.

Tot valorant les complicacions, el trasplantament de budell prim com a tractament de la insuficiència intestinal representa un risc igual o inclús menor que el manteniment a llarg termini amb Nutrició Parenteral Total.

Examinant les indicacions i resultats de la nutrició parenteral perllongada durant períodes superiors a dos anys,<sup>246</sup> es poden distingir dos grups principals de pacients que es podrien considerar candidats al trasplantament de budell prim:

- \* Pacients amb nutrició parenteral permanent indicada pel tractament d'una insuficiència intestinal funcional deguda a resecció intestinal o a malabsorció (vòlvuls, hernies estrangulades, atrèsia intestinal, enteritis ràdica, etc.)
- \* Pacients que reben nutrició parenteral total de forma paliativa en patir malaltia de Crohn activa que els impedeix mantenir l'estat nutricional, i què reben aquesta forma de nutrició mentre no s'en troba una teràpia efectiva.

En contrast, en els pacients amb insuficiència intestinal deguda a malalties sistèmiques com l'esclerodèrmia o l'amiloidosi amb una afectació multiorgànica, així com en els que pateixen de malalties vasculars com ateromatosis o diabetis severa, el trasplantament de budell prim no representaria un benefici important degut al risc que la pròpia malaltia primària té per a l'afectació d'òrgans vitals<sup>246</sup>.

En el cas de la Malaltia de Crohn, també cal considerar que malgrat el

trasplantament de budell prim, la pròpia malaltia pot afectar altres segments digestius com el còlon, duodé, estómac o esòfag, de forma que en alguns casos podria considerar-se com una contraindicació relativa per aquest tipus de trasplantament<sup>247</sup>.

En relació a l'edat, encara no s'han establert uns límits ja que el trasplantament intestinal tampoc no és un procediment estàndard.

### **1.3. TRASPLANTAMENT INTESTINAL CLINIC**

Abans de la utilització de la Ciclosporina A, es varen realitzar 8 trasplantaments de budell prim i en tots els casos els pacients varen morir a causa del rebuig, de la reacció empelt contra hoste o de problemes tècnics<sup>4,232,248</sup>.

Amb el progrés de les tècniques quirúrgiques i l'aplicació de la Ciclosporina A i de nous agents immunosupressors, el pronòstic dels malalts ha millorat lleugerament, però el rebuig i la infecció continuen essent els principals problemes del trasplantament intestinal<sup>22</sup>.

Actualment, amb l'administració d'una triple o quàdruple terapèutica immunosupressora s'han arribat a tolerar els trasplantaments de pàncreas amb duodè i el trasplantament multivisceral de fetge-pàncreas-duodè i primera porció del budell prim<sup>41,249</sup>.

#### **1.3.1. DONANTS I EXTRACCIO**

L'obtenció de budell prim pot fer-se a partir de donants vius relacionats amb el receptor o a partir de donants cadàvers i, en aquest cas, l'extracció del budell es fa conjuntament amb la dels altres òrgans a transplantar.

##### **1.3.1.1. Obtenció del budell prim procedent de donants vius**

El trasplantament intestinal amb el budell prim procedent d'un donant viu requereix que donant i receptor siguin histocompatibles i comparteixin el mateix grup sanguini<sup>22</sup>.

L'extracció del budell del donant s'efectua simultàniament a la intervenció quirúrgica en el receptor, de manera que el temps d'isquèmia i preservació es minimitza considerablement.

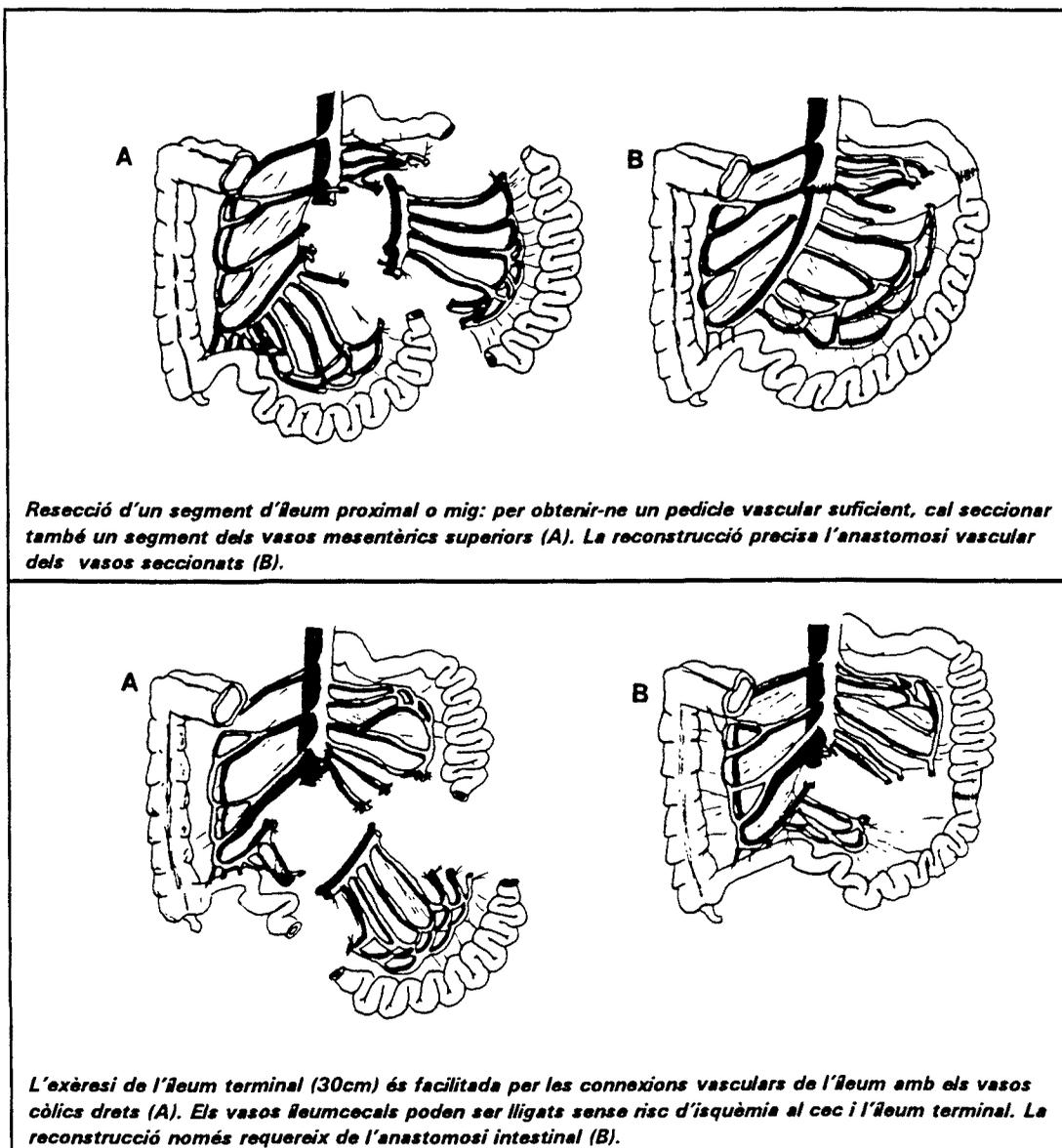
Del donant viu s'extrauen entre 150 i 200cm de budell prim, considerant que, en teoria, tal pèrdua no comprometrà el seu estat nutricional. En relació amb els aspectes tècnics d'aquesta extracció, destaca l'elecció del segment intestinal tal com es mostra a la FIGURA 11. Si es reseca un segment del jejú mig o proximal, cal

seccionar també un segment de l'artèria i la vena Mesentèriques superiors per obtenir-ne un pedicle vascular suficient pel trasplantament. En aquesta situació, per a la reconstrucció en el donant es fa necessària una anastomosi termino-terminal dels vasos mesentèrics, la qual porta associat el risc de trombosi a la sutura venosa amb la consegüent pèrdua del budell prim distal i del cec del donant.

Es important conèixer l'estat de la vascularització mesentèrica del donant mitjançant una angiografia prèvia a l'extracció. En donants en els quals s'observa una arcada ben desenvolupada entre les artèries còlica dreta i íleumcecal, es pot extreure la porció mitjana de l'íleum amb els vasos mesentèrics com a pedicle vascular, sense la necessitat d'anastomosis vasculars reconstructives, ja que l'aport vascular a l'íleum terminal i al cec prové de l'artèria i vena íleumcecal.

En el cas d'efectuar una discutida extracció de l'íleum terminal, donada la pèrdua que això suposa pel donant, el budell distal pot ser extret acompanyat o no del cec. La continuïtat gastrointestinal en el donant s'estableix per anastomosi entre l'íleum i el còlon ascendent i la sutura vascular és innecessària<sup>250</sup>.

La preparació que requereix el budell prim donant prèviament al trasplantament inclou la dissecció dels vasos apropiats, heparinització, descontaminació de la llum intestinal per rentat amb una solució freda que conté neomicina i la preservació en estat d'isquèmia freda a través del rentat vascular amb solució d'Eurocollins o de Wisconsin a 4 °C. L'actuació sobre les cèl.lules immunocompetents del budell donant pot fer-se tot administrant sèrum antilinfocític, metil-prednisolona, OKT3, o bé fer una irradiació *in vitro*<sup>22</sup>.



**FIGURA 11: EXTRACCIÓ DEL BUDELL PRIM EN EL DONANT VIU**

### 1.3.1.2. Extracció del budell prim en el donant cadàver

Sobre el donant cadàver recauen els mateixos requeriments pel trasplantament intestinal que pel trasplantament d'altres òrgans. Actualment i degut a què les tècniques de preservació i transport no estan encara resoltes definitivament pel que fa al trasplantament intestinal, és necessari que el donant de budell prim sigui geogràficament a prop del receptor, preferiblement al mateix hospital<sup>91</sup>.

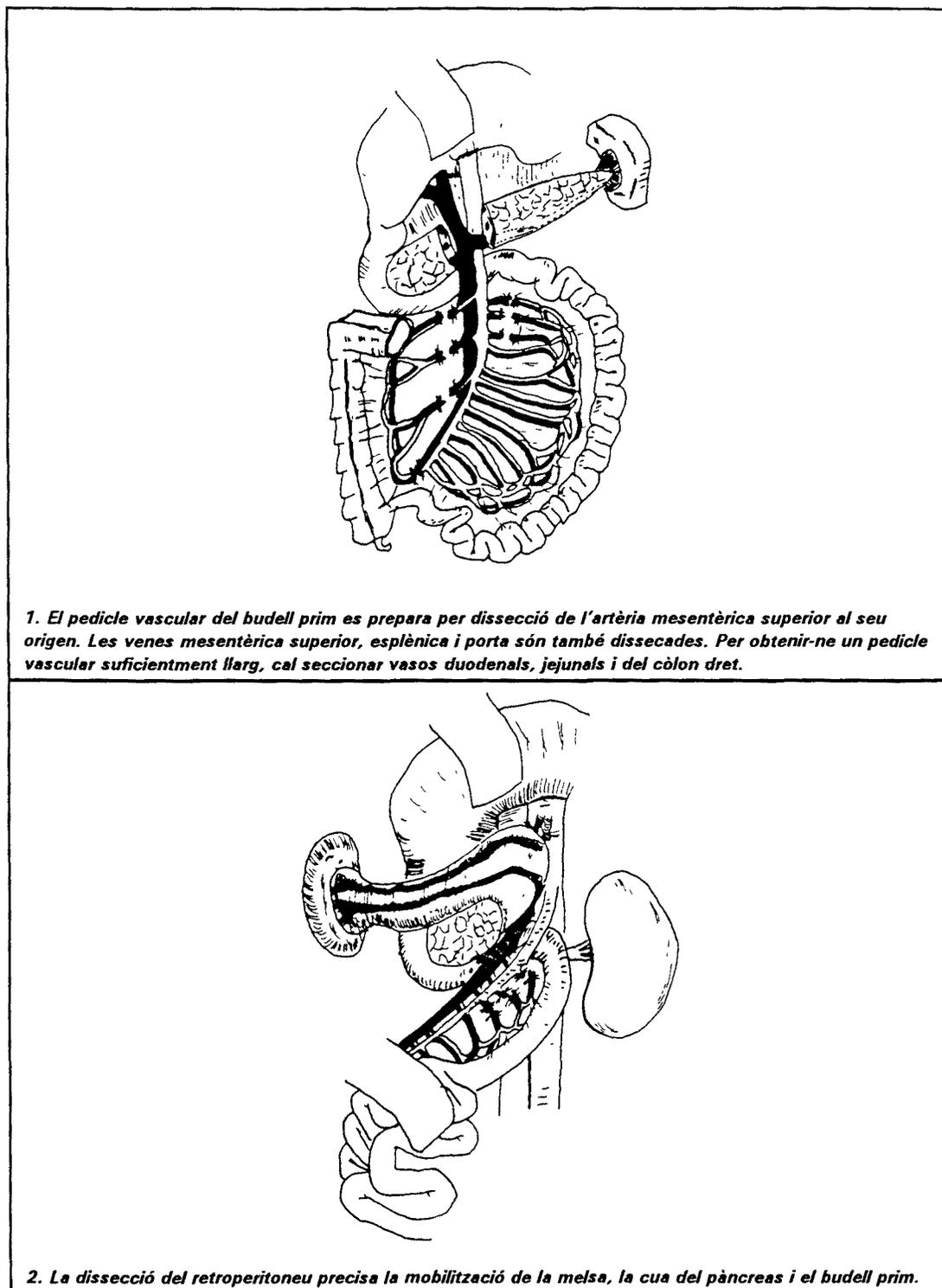
Les talles de donant i receptor han de ser similars per poder-se acomodar al tamany del segment trasplantat<sup>251</sup> i, si bé el budell d'un donant pediàtric pot adaptar-se en un receptor adult, el tamany del budell d'un adult difícilment s'acomodarà dins la cavitat peritoneal d'un infant, tot considerant, a més a més, que la pròpia malaltia intestinal i les intervencions quirúrgiques previes hauran causat nombroses adherències entre les vísceres intraabdominals i amb la paret<sup>250</sup>.

Per tal d'evitar els efectes de la isquèmia, tota tècnica de preservació comença amb la infusió intraoperatòria de solucions fredes a través del segment intestinal. Tant si es tracta del budell prim sol com si és en bloc amb el fetge i, tot considerant la seva continuïtat venosa esplàncnica, la irrigació vascular *ex vivo* amb solució de Wisconsin permet el refredament ràpid a més del rentat vascular del budell<sup>22</sup>.

Per a les extraccions de múltiples òrgans del cadàver, cal tenir en compte algunes modificacions a realitzar sobre les tècniques habituals d'extracció d'un sol òrgan i és necessari un plantejament tècnic per tal de no lesionar cap òrgan potencialment utilitzable<sup>252</sup>. Degut a la contaminació pròpia de la llum intestinal, la secció del tracte intestinal haurà de ser una de les darreres maniobres operatòries.

Durant l'extracció simple dels ronyons, s'han de lligar els vasos portals i l'artèria mesentèrica superior, la qual cosa no és possible si es considera l'extracció del budell prim. En aquesta situació, ronyons i budell prim s'han d'extreure conjuntament i el procediment comença per la dissecció dels vasos mesentèrics, tot identificant clarament la confluència de la vena mesentèrica superior amb la vena esplènica. Tal dissecció comporta la lligadura i secció dels vasos còlics i l'arcada gastro-duodenal inferior i de 2 o 4 vasos proximals del jejú i del duodè. D'aquesta manera s'hi obté un pedicle vascular mesentèric suficientment llarg per a facilitar la

realització de les anastomosis vasculars i l'exteriorització dels extrems intestinals en forma d'estomes (FIGURA 12.1). En el curs de la dissecció queda exposada l'aorta intraabdominal per dissecció retroperitoneal, la qual requereix la mobilització de la melsa i la cua del pàncreas amb una reflexió d'elles i del budell prim cap a la dreta del pacient (FIGURA 12.2).



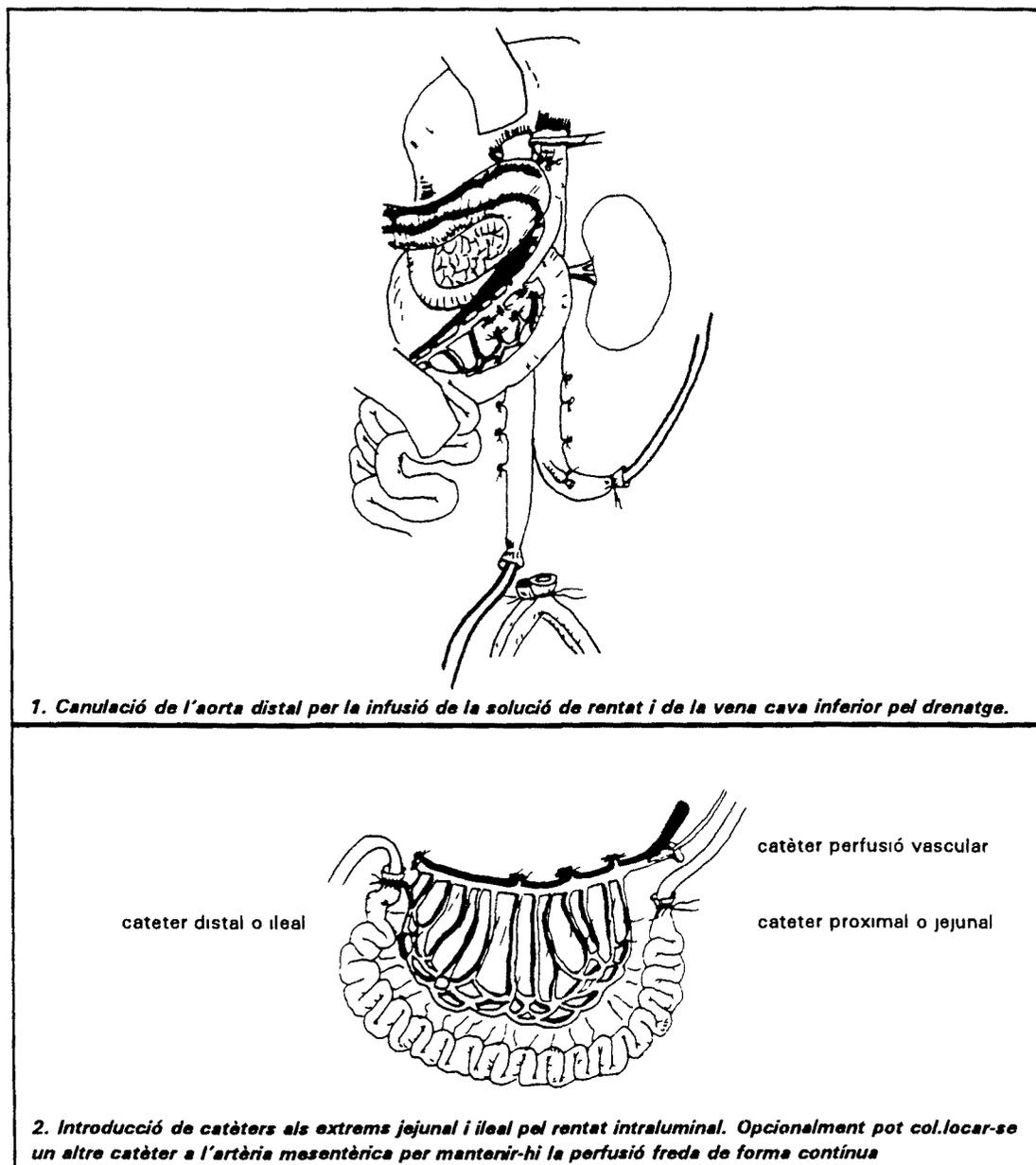
**FIGURA 12: EXTRACCIO DEL BUDELL EN EL DONANT CADAVER**

Completada la dissecció del retroperitoneu i, tal com es mostra a la FIGURA 13.1, es lliguen l'aorta i la vena cava a nivell infrarenal, l'artèria mesentèrica inferior i algunes branques lumbar; es clampa l'aorta proximalment a l'origen de la mesentèrica superior i es canulen l'aorta, la vena cava i la porta per tal de realitzar la perfusió vascular amb la solució de preservació a 4°C (Ringer lactat, solució de Collins o de Wisconsin). Posteriorment s'extrauen els ronyons i es secciona l'artèria mesentèrica superior al seu origen i amb una porció o *cuff* de la paret aòrtica. El pedicle vascular es completa amb la secció de la vena mesentèrica superior o, preferentment, de la vena porta per una posterior anastomosi porto-sistèmica amb la vena cava o entre les venes portes donant i receptora.

Al budell, ara unit al donant només pel duodè i el cec (FIGURA 13.2), es col.loquen catèters al jejú proximal i a l'íleon terminal per tal d'efectuar un rentat de la llum intestinal amb solució freda antibiòtica. Posteriorment ja es pot extreure i conservar per hipotèrmia simple o amb perfusió contínua intravascular amb o sense perfusió intraluminal fins al seu trasplantament<sup>250</sup>.

Per a l'extracció del budell prim amb el fetge i els ronyons es requereix la dissecció del tronc celíac, els vasos portals i els vasos esplènics i mesentèrics superiors. L'arrel del mesenteri s'allibera del duodè, pàncreas i jejú proximal i, així, es mobilitza el fetge des del diafragma.

Per a l'obtenció a més del pàncreas, es requereix la secció d'una a quatre arcades jejunal per tal d'obtenir-ne un pedicle vascular prou llarg. Malgrat que aquesta maniobra suposa la pèrdua de part del jejú, la longitud del segment intestinal restant és encara suficient (més de 200cm).



**FIGURA 13: RENTAT VASCULAR I INTRALUMINAL DEL BUDELL PRIM EN EL DONANT CADAVER**

### 1.3.1.3. Solucions de preservació i temps d'isquèmia

Generalment, les solucions utilitzades per al rentat vascular i la conservació del budell prim han estat les de Wisconsin<sup>251,253,254,255,256</sup> i Collins<sup>257</sup>, encara que també i sobretot en els primers trasplantaments clínics es va utilitzar el Ringer lactat<sup>248</sup>.

Per al rentat de la llum intestinal es sol utilitzar Ringer lactat o la mateixa solució que per al rentat vascular i mesclada amb antibiòtics<sup>254,255</sup>.

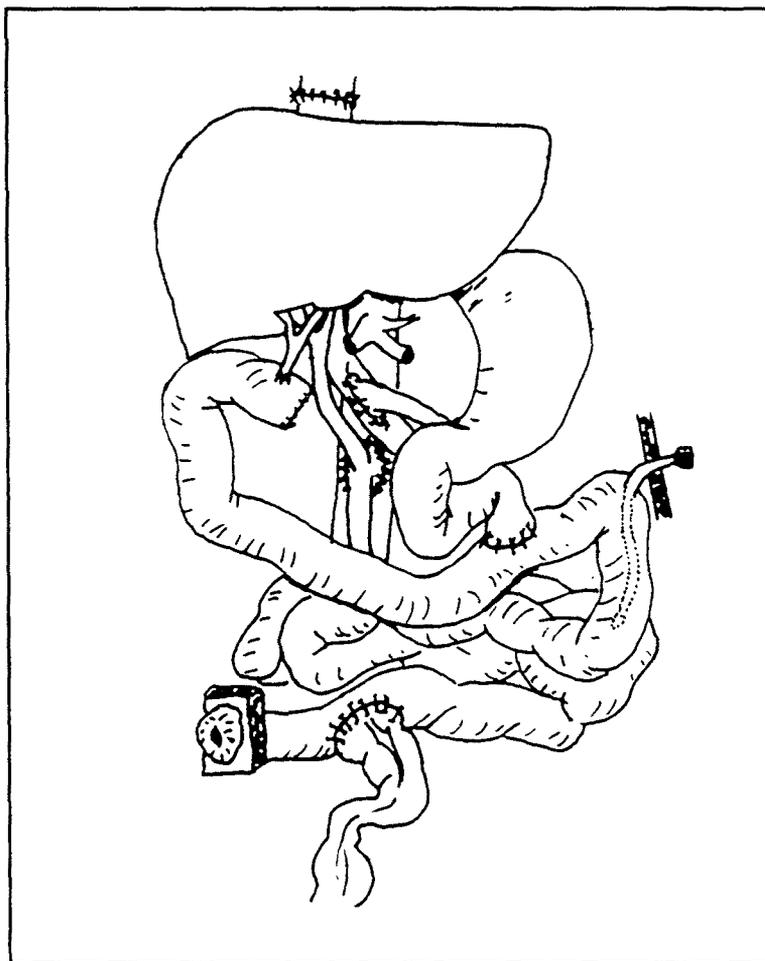
Els temps d'isquèmia freda han estat en mitjana de 50 minuts a 3 hores per al trasplantament intestinal aïllat<sup>257,258</sup> i de 7 a 16 hores per al trasplantament combinat de fetge i budell<sup>254,255,256</sup>.

### 1.3.2. TECNICA QUIRURGICA DEL TRASPLANTAMENT CLINIC

En el trasplantament de budell prim ortotòpic i heterotòpic, l'artèria mesentèrica superior del segment intestinal donant s'anastomosa a nivell de l'aorta infrarenal del receptor directament o a través d'un *cuff* d'aorta. El drenatge venós pot establir-se cap a la vena porta o cap a la vena cava inferior del receptor.

Quan es realitza el trasplantament intestinal en combinació amb l'hepàtic, el fetge donant es situa ortotòpicament, amb l'anastomosi venosa a la cava inferior i l'anastomosi arterial entre l'aorta donant, amb el tronc celíac i la mesentèrica superior, i l'aorta infrarenal del receptor, tal com es mostra a la FIGURA 14.

El tractament dels extrems del budell trasplantat no és un fet establert definitivament. L'experiència clínica ha demostrat la necessitat i utilitat de deixar una ostomia cutània, ja sia única i distal (ileostomia) o doble, amb jejunostomia proximal, per tal de facilitar la vigilància clínica i histològica del budell trasplantat<sup>2</sup>. Els 5 primers trasplantaments clínics que es van realitzar abans de l'any 1972<sup>259,260,261,262,263</sup> tenien tots una ostomia cutània i, també posteriorment, s'ha optat per deixar al menys un extrem com estoma o com una butxaca aïllada (*pouch*)<sup>41,104,264</sup>.



**FIGURA 14: TRASPLANTAMENT ORTOTÒPIC DE FETGE I BUDELL PRIM**

El restabliment de la continuïtat del budell trasplantat amb la resta del tracte gastrointestinal és una decisió a prendre segons l'evolució del pacient. L'equip de Nordgren i Cohen<sup>2</sup>, tot basant-se en l'observació de diarrea en el postoperatori del trasplantament intestinal, tendeixen a realitzar el trasplantament clínic amb una ostomia proximal i anastomosi distal en els pacients amb còlon remanent i funcionant. D'aquesta manera el còlon pot reduir el volum de les defecacions. Posteriorment, es pot realitzar l'anastomosi proximal al temps que es deixa el que fóra l'estoma aïllat en forma de butxaca.

Actualment es tendeix a realitzar el trasplantament intestinal de tipus multivisceral en combinació amb el fetge. Els pioners en aquesta tècnica varen ser els membres de l'equip de Grant l'any 1988<sup>253</sup>. Posteriorment, s'han efectuat altres intents però la funció absortiva intestinal ha estat correcta escases vegades.

La supervivència després del trasplantament multivisceral queda molt limitada degut a què el control del rebuig requereix dosis elevades d'immunosupressors, les quals comporten risc d'infecció i limfomes, a més de la pròpia toxicitat d'aquests fàrmacs<sup>253</sup>.

### 1.3.3. TERAPEUTICA IMMUNOSUPRESSORA

Generalment, els pacients amb trasplantament de budell prim han estat tractats amb Ciclosporina A i prednisona en prevenció del rebuig i la reacció empelt-  
contra-hoste<sup>41,104,254,255,258,264</sup>.

L'azatioprina i el OKT3 així com el sèrum antilimfocític s'han utilitzat freqüentment en combinació amb la Ciclosporina A<sup>251,255,257</sup>.

Les crisis de rebuig s'han intentat controlar amb metil-prednisolona i sèrum antilimfocític via intravenosa<sup>251</sup> o bé amb OKT3<sup>22</sup>.

Les infeccions oportunistes requereixen la reducció de la immunosupressió, però en dos casos aquesta reducció i el fet que la infecció afectés el propi budell trasplantat han desembocat en la pèrdua i subsegüent extracció del nou budell<sup>251</sup>.

Darrerament, la introducció de l'immunosupressor FK506 intenta desplaçar la

Ciclosporina A en el trasplantament intestinal.

La teràpia amb FK506 també pot realitzar-se en combinació amb esteroides i azatioprina, els quals han estat aplicats quan el FK506 no podia administrar-se a dosis suficients degut a una lesió renal del pacient<sup>256,265,266</sup>.

#### 1.3.4 SEGUIMENT IMMUNOLÒGIC I FUNCIONAL

El risc elevat de complicacions immunològiques i infeccioses després del trasplantament intestinal requereix d'una vigilància acurada basada en aspectes clínics, bioquímics, histopatològics, metabòlics endoscòpics i radiològics<sup>22,41,267</sup>:

Clínicament cal valorar el volum i qualitat de les secrecions fecals, temperatura, esplenomegàlia, adenopaties i signes d'irritació peritoneal. Quan es produeix el rebuig, la diarrea és intensa, de varis litres al dia, i alerta sobre una possible necrosi que ràpidament pot desembocar en la perforació del budell trasplantat. Cal també explorar el pacient en busca de focus infecciosos<sup>22,268</sup>.

La mesura de l'excreció fecal de greixos, els tests d'absorció de Maltosa o de D-Xilosa i el de Schilling avaluaran la funció absortiva del budell trasplantat<sup>254,258</sup>.

L'estudi histopatològic de les mostres-biòpsia de la mucosa intestinal preses per via endoscòpica a través de l'ostomia detectarà les lesions microscòpiques del rebuig agut. Aquestes alteracions consisteixen en necrosi de les criptes, edema i atròfia a les vellositats amb denudació de l'epiteli superficial i infiltració massiva de la làmina pròpia per limfòcits i macròfags<sup>266,269,270</sup>. Si a aquestes lesions s'associa diarrea intensa, el risc de perforació intestinal imposarà l'extracció del budell trasplantat<sup>22</sup>.

Amb les determinacions sanguínies de poblacions limfocitàries circulants pot detectar-se l'aparició de la reacció empelt-contra-hoste. La presència de limfòcits del donant a la sang del receptor coincideix amb l'aparició de lesions cutànies en les quals la biòpsia mostrarà infiltrat limfocitari i necrosi dels queratòcits<sup>22</sup>.

En cas de trasplantament combinat de fetge i budell prim, la determinació dels enzims hepàtics, temps de protrombina, bilirrubina i les biòpsies de fetge permeten

el control evolutiu<sup>254</sup>.

També és important avaluar l'estat del budell prim trasplantat mitjançant estudis radiogràfics com el trànsit digestiu contrastat, ecografia-doppler, Tomografia Axial Computeritzada i angiografia<sup>271,272</sup>.

Els nivells sanguinis de Ciclosporina A o de FK506 són útils per valorar l'absorció intestinal d'aquests fàrmacs quan llur administració es realitza per via oral<sup>22,265</sup>.

Es aconsellable iniciar el més aviat possible l'alimentació enteral per tal de constituir la barrera intestinal normal<sup>22,251,273</sup>.

### 1.3.5. EVOLUCIO DELS PACIENTS AMB TRASPLANTAMENT INTESTINAL

A les TAULES 6, 7 i 8 es mostra l'experiència mundial en trasplantament intestinal registrada des de 1964 fins l'actualitat (1993)<sup>274</sup>.

ANY	EQUIP	INDICACIO	EDAT RECEPTOR	PERIODE FUNCIONAL	COMPLICACIONS	EVOLUCIO PACIENT
1964	Deterling Deterling	? ?		12 hores 48 hores	Necrosi Necrosi	Exitus Extracció
1967	Lillehei	Trombosi venosa	46 anys	12 hores	Shock sèptic	Exitus
1968	Okumura	Trombosi arterial	34 anys	10 dies	Rebuig + Necrosi	Exitus
1969	Olivier	Síndrome Gardner	35 anys	26 dies	Rebuig + Sèpsia	Exitus
	Okumura	Volvul	12 anys	5 dies	Rebuig	Exitus
	Alican	Brides	10 anys	7 dies	Sèpsia + Necrosi	Exitus
1972	Fortner	Síndrome Gardner	37 anys	76 dies	Sèpsia + Empelt contra hoste	Exitus

**TAULA 6: TRASPLANTAMENT INTESTINAL CLINIC EN L'ERA PRECICLOSPORINA A**

ANY	EQUIP	TRACTAMENT IMMUNOSUPRESSOR	EDAT RECEPTOR	PERIODE FUNCIONAL	COMPLICACIONS	EVOLUCIÓ PACIENT
1985	Cohen	Ciclosporina A	26 anys	10 dies	Encefalopatia	Exitus
1986	Dazza	Ciclosporina A	45 anys	17 dies	Sèpsia	Exitus
1987	Williams Révillon Révillon Deltz	Ciclosporina A Ciclosporina A Ciclosporina A Ciclosporina A	? 9 mesos 9 anys 5 anys	10 dies 24 hores 7 mesos 12 dies	Rebuig Necrosis Shock Sèptic Rebuig	? Extracció Exitus Extracció
1988	Grant Révillon Deltz Révillon	Ciclosporina A Ciclosporina A Ciclosporina A Ciclosporina A	8 anys 6 anys 42 anys 3 anys	15 dies 17 mesos 2 anys 60 dies	Sèpsia + Rebuig Rebuig crònic Budell funcionant Rebuig agut + Sèpsia	Extracció Extracció Viu Extracció
1989	Révillon Révillon Révillon Deltz	Ciclosporina A Ciclosporina A Ciclosporina A Ciclosporina A	9 mesos 5 mesos 4 mesos 43 anys	25 dies més de 3 anys 7 mesos més de 14 mesos	Rebuig Budell funcionant Rebuig agut Budell funcionant	Extracció Viu Extracció Viu
1990	Wallander Révillon Révillon Révillon Starzl	Ciclosporina A Ciclosporina A Ciclosporina A Ciclosporina A FK 506	13 mesos 3 anys 20 mesos 9 mesos 31 anys	2 mesos 2 mesos 24 hores 25 dies 22 mesos	Rebuig + Sèpsia Rebuig + Sèpsia Rebuig agut + Shock Rebuig agut Rebuig crònic	Exitus Extracció Exitus Extracció Exitus
1991	Starzl Starzl Starzl Starzl	FK 506 FK 506 FK 506 FK 506	30 mesos 16 mesos 50 anys 34 anys	més de 15 mesos més de 13 mesos més de 13 mesos 8 mesos	Budell funcionant Budell funcionant Budell funcionant Rebuig	Viu Viu Viu Extracció
1992	Starzl Starzl Starzl Starzl	FK 506 FK 506 FK 506 FK 506	38 anys 10 anys 20 anys 23 anys	més de 18 mesos més de 11 mesos més de 8 mesos més de 11 mesos	Budell funcionant Budell funcionant Budell funcionant Budell funcionant	Viu Viu Viu Viu

**TAULA 7: TRASPLANTAMENT DE BUDELL PRIM AILLAT EN TRACTAMENT AMB CICLOSPORINA O FK 506**

ANY	EQUIP	TRANSPLANTAMENT	TRACTAMENT IMMUNOSUPRESSOR	EDAT RECEPTOR	PERIODE FUNCIONAL	COMPLICACIONS	EVOLUCIO PACIENT
1983	Starzl	Multivisceral	Ciclosporina A	6 anys	24 hores	Fallada multisistèmica	Exitus
1987	Williams	Multivisceral	Ciclosporina A	17 mesos	4 dies	Hemorràgia arterial	Exitus
1988	Belzer Williams Starzl Grant	Fetge + Budell Fetge + Budell Multivisceral Fetge + Budell	Ciclosporina A Ciclosporina A Ciclosporina A Ciclosporina A	14 mesos 9 mesos 3 anys 41 anys	52 dies 109 dies 6 mesos + 3 anys	Sèpsia Rebuig + Limfoma Sèpsia + Limfoma Budell funcionant	Exitus Exitus Exitus Viu
1989	Grant Margreiter Grant	Fetge + Budell Multivisceral Fetge + Budell	Ciclosporina A Ciclosporina A FK 506	46 anys 45 anys 36 anys	2 mesos 7 mesos + 2 anys	AVC + Limfoma Recidiva tumoral Budell funcionant	Exitus Exitus Viu
1990	Starzl Starzl Grant Grant Starzl	Fetge + Budell Fetge + Budell Multivisceral Multivisceral Fetge + Budell	FK 506 FK 506 Ciclosporina A Ciclosporina A FK 506	3 anys 4 anys ? 27 anys 26 anys	+ 2 anys + 2 anys + 8 mesos 7 mesos + 2 anys	Budell funcionant Budell funcionant Budell funcionant Sèpsia + Limfoma Budell funcionant	Viu Viu Viu Exitus Viu
1991	Starzl Simeoni Simeoni Starzl Starzl Starzl Busuttil Starzl Starzl	Fetge + Budell Multivisceral Multivisceral Fetge + Budell Fetge + Budell Fetge + Budell Fetge + Budell Fetge + Budell Multivisceral	FK 506 Ciclosporina A Ciclosporina A FK 506 FK 506 FK 506 FK 506 FK 506 FK 506	3 anys 18 mesos 10 mesos 6 mesos 13 mesos 20 mesos 19 anys 21 anys 32 anys	13 mesos 7 mesos 4 mesos 1 mes + 18 mesos + 18 mesos + 9 mesos + 17 mesos + 15 mesos	Limfoma Rebuig + Sèpsia Rebuig + Perforació Sèpsia + GVHR Budell funcionant Budell funcionant Budell funcionant Budell funcionant Budell funcionant	Exitus Exitus Exitus Exitus Viu Viu Viu Viu Viu Viu
1992	Starzl Starzl Starzl Starzl Starzl Starzl Starzl Starzl Starzl Starzl Starzl Starzl	Fetge + Budell Fetge + Budell Fetge + Budell Fetge + Budell Fetge + Budell Fetge + Budell Fetge + Budell Fetge + Budell Multivisceral Multivisceral Fetge + Budell Fetge + Budell	FK 506 FK 506 FK 506 FK 506 FK 506 FK 506 FK 506 FK 506 FK 506 FK 506 FK 506 FK 506	18 mesos 4 anys 17 mesos 10 mesos 6 mesos 4 anys 25 anys 29 anys 24 anys 31 anys 19 anys 44 anys	2 mesos + 8 mesos 1 mes + 6 mesos + 6 mesos + 3 mesos + 10 mesos + 8 mesos + 8 mesos + 6 mesos + 5 mesos + 5 mesos	Sèpsia Budell funcionant Sèpsia Budell funcionant Budell funcionant Budell funcionant Budell funcionant Budell funcionant Budell funcionant Budell funcionant Budell funcionant Budell funcionant	Exitus Viu Exitus Viu Viu Viu Viu Viu Viu Viu Viu Viu

**TAULA 8: TRASPLANTAMENT DE BUDELL PRIM EN COMBINACIO AMB ALTRES ORGANS**

Fins l'actualitat, han estat registrats a la literatura uns 70 trasplantaments de budell prim, bé en forma aïllada o bé en combinació amb altres òrgans, sobre tot amb el fetge. En aquesta revisió, es poden distingir tres períodes evolutius en relació al tractament immunosupressor aplicat. El primer correspondria a l'era pre-Ciclosporina A, en el qual el fracàs dels 8 trasplantaments intestinals realitzats va impedir que s'en realitzés cap altre des de 1972 fins a 1983.

El segon període aniria de 1983 a 1990 i en ell, la base del tractament immunosupressor va ser la Ciclosporina A, associada a prednisona, azatioprina i sèrum antilimfocític en alguns casos, donant lloc a una millora discreta dels resultats. Així, de 18 trasplantaments de budell prim aïllat en tractament amb Ciclosporina A, només en tres pacients el budell trasplantat ha estat capaç de mantenir l'estat nutricional sense necessitat d'aports artificials de nutrients i durant un període de temps de 14 mesos a 3 anys<sup>4,257,258,274</sup>. Els altres pacients varen presentar complicacions immunològiques o sèptiques relacionades amb el trasplantament, les quals varen causar la mort o van requerir l'extracció del budell trasplantat i el retorn a la dependència total de la nutrició parenteral.

En els 12 pacients receptors de trasplantament de budell prim en combinació amb altres òrgans i tot rebent tractament immunosupressor amb Ciclosporina A, només en 2 casos el nou budell ha funcionat durant períodes de temps de 8 mesos a 3 anys. En els altres pacients s'ha produït la mort degut a rebuig incontrolable, limfoma i sèpsia<sup>4,274</sup>.

El tercer període seria el més actual i començaria l'any 1990, després de la introducció de l'agent immunosupressor FK 506 en el tractament dels pacients trasplantats. En els 9 casos de trasplantament de budell prim aïllat, realitzats de 1990 a 1992, la viabilitat funcional del budell trasplantat ha estat possible en 8 d'ells durant més d'un any i només en un cas s'ha produït la mort de la pacient després d'un segon trasplantament provocat per la pèrdua del primer afectat de rebuig crònic<sup>256</sup>.

També amb FK 506, s'han tractat 23 pacients receptors de trasplantament de budell prim en combinació amb el fetge o amb altres òrgans intraabdominals, tot

mostrant una evolució funcional favorable del budell trasplantat en 19 d'ells, i fracasant en els altres fonamentalment per causa de sèpsia o limfoma.

El fracàs del manteniment nutricional sense aportos artificials ha estat provocat fonamentalment per 3 causes<sup>268</sup>:

- **Crisis de rebuig**: El rebuig resulta en alteracions de la motilitat i malabsorció que fan necessària la interrupció de la nutrició enteral fins el seu control.
- **Infeccions**: Les infeccions sistèmiques i les enteritis per Citomegalovirus o Adenovirus s'associen amb íleus paralític el qual requereix també la supressió de la nutrició enteral.
- **Rebuig al menjar**: Si bé sembla lògic pensar que els pacients prefereixen nodrir-se per via oral que no dependre de mitjans artificials, entre els malalts pediàtrics és freqüent observar un rebuig important a les menjades. Aquest fenomen s'atribueix a l'experiència negativa que per ells ha suposat la ingesta oral en els períodes preoperatoris. Una pacient adulta no va acceptar la dieta oral fins 7 mesos després del trasplantament.

### 1.3.6. PERSPECTIVES DE FUTUR DEL TRASPLANTAMENT INTESTINAL

L'experiència actual demostra que el trasplantament intestinal clínic és possible malgrat les complicacions immunològiques i sèptiques que comporta. Però per tal de poder aplicar amb seguretat el trasplantament intestinal com un tractament d'elecció, cal encara valorar una sèrie d'aspectes en els quals es basen les línies de recerca actuals<sup>4</sup>.

Cal aplicar nous agents immunosupressors en el control de la resposta immunològica capaços de fer front tant al rebuig com a la reacció empelt-contrahoste. Aquests agents haurien d'actuar sense lesionar la funció intestinal i, malgrat els inconvenients que això suposa, caldria que fossin capaços de preservar la funció de barrera immunològica de la paret intestinal del budell trasplantat.

Es important conèixer com s'afecta la micromorfologia de la mucosa intestinal posteriorment al trasplantament per valorar la funció absorbentiva. En aquest sentit,

s'està considerant l'efecte sobre el trofisme de la mucosa intestinal de l'aportament nutricional específic de certs aminoàcids com la L-Glutamina, la qual sembla ser indispensable pels requeriments energètics dels enteròcits<sup>275,276</sup>.

També cal estudiar marcadors serològics del rebuig per tal de poder detectar aquest en les seves fases més tempranes, en les quals encara és possible aplicar amb èxit el tractament immunosupressor<sup>277,278,279,280</sup>.

L'aplicació del trasplantament multivisceral, sobre tot la combinació de fetge i budell prim, s'està valorant per aquells pacients en els quals la nutrició parenteral perllongada ha produït lesions hepàtiques irreversibles<sup>256</sup>.

Si bé les línies de recerca es basen en aspectes variats, l'objectiu fonamental de totes elles és el coneixement dels factors que influeixen sobre el funcionalisme del budell prim trasplantat.

## **2. HIPOTESI DE TREBALL**

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL

Mercè Hernández i González

ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010

## 2. HIPOTESI DE TREBALL

Després del trasplantament, el budell prim s'ha d'adaptar als efectes derivats de la tècnica quirúrgica mentre es troba inclòs dins les reaccions de resposta immunològica i sota els efectes del tractament immunosupressor. Aquest procés d'adaptació comporta una sèrie d'alteracions fisiopatològiques i morfoestructurals a la mucosa intestinal les quals podrien afectar en forma negativa la funció intestinal. Degut a això, malgrat que la finalitat del trasplantament intestinal és la d'assolir una funció absortiva capaç de superar la problemàtica derivada de la síndrome del budell curt, aquest objectiu ha estat aconseguit en escases ocasions i durant períodes de temps limitats.

Tot observant aquest fet, en el nostre estudi s'ha utilitzat un model experimental de trasplantament de budell prim en rates amb la finalitat de poder observar les possibles relacions entre les alteracions morfològiques que es produeixen posteriorment al trasplantament i la incapacitat per a la funció absortiva del budell prim trasplantat.

Els objectius del nostre estudi es poden centrar en:

1. Observar si les alteracions micromorfològiques que es produeixen a la mucosa del budell prim trasplantat venen relacionades amb la pròpia tècnica quirúrgica o bé són causades pels fenòmens derivats de la resposta immunològica de rebuig i del tractament immunosupressor.
2. Valorar si els canvis morfològics de la mucosa intestinal tenen una correlació significativa amb variacions de la capacitat d'absorció.
3. Determinar si les variacions morfomètriques de les estructures de la superfície absortiva intestinal es correlacionen o no amb alteracions de la funció absortiva.

La valoració dels objectius esmentats ens permetrà resoldre la següent hipòtesi de treball:

a/ La insuficiència absortiva del segment de budell prim trasplantat ve donada per alteracions morfològiques i morfomètriques de la mucosa intestinal.

b/ La tècnica quirúrgica pot repercutir sobre l'evolució funcional del budell trasplantat.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL

Mercè Hernández i González

ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010

### **3. MATERIAL I METODEDES**



### 3. MATERIAL I METODEDES

En primer lloc, s'hi descriuran les característiques de l'animal d'experimentació escollit per aquest estudi. La resta de material utilitzat serà descrit a l'apartat corresponent a l'explicació de cada tècnica o mètode.

En el segon apartat, s'hi detallaran les series experimentals i tècniques utilitzades, així com els mètodes d'estudi, d'obtenció de resultats i d'avaluació estadística.

#### 3.1. ANIMAL D'EXPERIMENTACIO

##### 3.1.1. CARACTERISTIQUES GENERALS

Per aquest treball experimental hem escollit rates de la soca consanguínia LEW i de la soca híbrida LBN. El pes mig de les rates ha estat de 250-350 grams per facilitar les tècniques microquirúrgiques. S'han utilitzat mascles i femelles, si bé els trasplantaments han estat realitzats sempre entre animals del mateix sexe per evitar possibles interferències amb el rebuig lligat als gens d'histocompatibilitat H-Y localitzats al cromosoma Y<sup>281</sup>.

La rata ha estat escollida com l'animal d'experimentació més adient al nostre treball degut a que la dotació immunogenètica de les soques pures i de les híbrides és ben definida i permet observar les reaccions al trasplantament intestinal en forma unidireccional, en aquest cas, cap el rebuig.

En termes més generals, la rata presenta un tamany reduït que facilita la seva manipulació i allotjament, és més resistent que altres animals a les infeccions, i ha estat utilitzada per altres autors en models experimentals similars, els quals poden servir de referència i comparació pels resultats obtinguts. A més a més, també cal tenir en compte la similitud anatòmica, fisiològica, metabòlica i nutricional del seu sistema digestiu amb el dels humans, i el seu cicle vital curt, amb el qual es redueix el temps necessari per a mesurar els canvis fisiològics o patològics provocats.

Les característiques fisiològiques de les rates de laboratori s'exposen a la TAULA 9<sup>14,282</sup>.

VIDA MITJANA	2-3 anys (màxim 4)
PES ANIMAL ADULT	mascle 200-500g femella 250-350g
TEMPERATURA CORPORAL	36.6-39.5°C.(*)
METABOLISME BASAL	35Kcal/24h(400g)
PUBERTAT	50 ± 10 dies
GESTACIO	20-23 dies
CONSUM D'ALIMENT/24h	5g/100g pes
CONSUM D'AIGUA	8-11ml/100g pes
TENSIO ARTERIAL	116/90 mm Hg
FREQÜENCIA RESPIRATORIA	85 resp/min
FREQÜENCIA CARDIACA	260-450 bat/min
CONSUM D'OXIGEN	2 ml O <sub>2</sub> g/hora
VOLUM SANGUINI	58 ml/kg pes
DIÛRESI/24h	5.5ml/100g pes
MASSA FECAL DIARIA	9-15 g

(\*) La temperatura rectal pot augmentar després de l'exercici, en animals joves, en femelles lactant i ,també, amb una temperatura ambient elevada. Pot disminuir durant l'anestèsia i la cirurgia.

#### TAULA 9: CARACTERISTIQUES FISIOLÒGIQUES DE LES RATES DE LABORATORI

### 3.1.2. CARACTERISTIQUES FILOGENETIQUES

En general, les rates utilitzades als laboratoris deriven de l'espècie salvatge *Ratus norvegicus*, la qual va aparèixer a Europa al segle XVIII. D'aquesta espècie salvatge se'n derivaren dues poblacions: la Long Evans i la rata Albina. De la rata Albina deriven les soques Wistar i Sprague Dawley<sup>283</sup>.

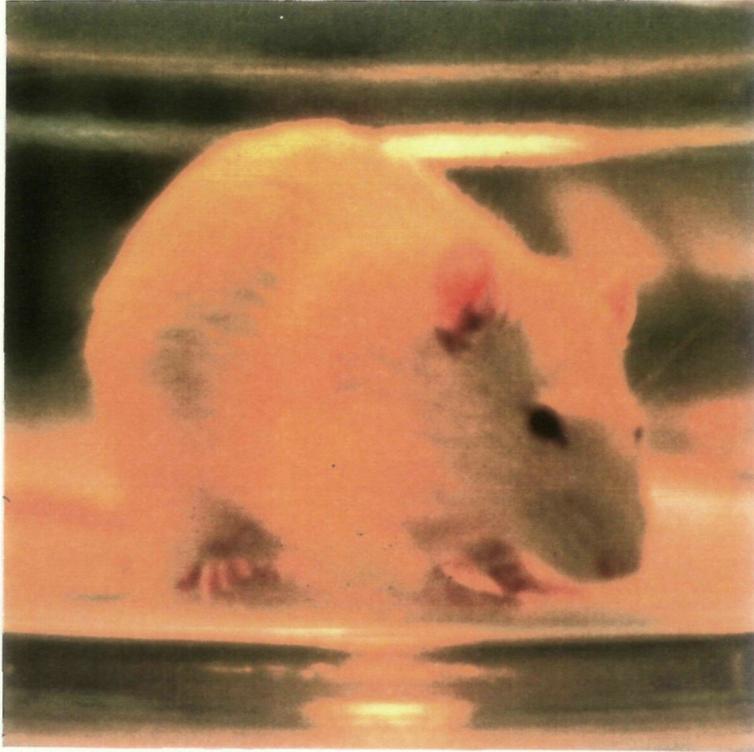
Les rates de les soques LEW i BN són rates de tipus consanguini. Es considera que una soca és consanguínia quan l'encreuament germà-germana ha estat mantingut durant 20 o més generacions. Actualment, les rates de soques consanguínies es tipifiquen tot utilitzant abreviatures de llur nom original en lletres majúscules. D'aquesta manera, les rates de les soques Lewis i Brown Norway reben les denominacions LEW i BN respectivament. Els híbrids provinents de l'encreuament de dues soques consanguínies s'anomenen tot indicant en primer lloc els símbols materns i a continuació els paterns corresponents a l'estirp progenitora. Al costat d'aquesta denominació, sol indicar-se, dins un parèntesi, el número de la corresponent generació dels híbrids resultants al costat d'una lletra F. Així, les rates híbrides utilitzades en aquest treball provenen de la primera generació de l'encreuament entre la soca LEW i la soca BN i reben la denominació LBN(F<sub>1</sub>).

Les rates LEW són rates albinas provinents de la soca Wistar i posseeixen més de 100 generacions en consanguinitat. Presenten una fertilitat alta i són apreciades per la seva docilitat (FIGURA 15).

Les rates BN constitueixen una altra estirp de rates consanguínies amb més de 60 generacions en consanguinitat. Són de color marró i entre altres característiques destaquen una baixa fertilitat, hidronefrosi congènita i tendència a l'aparició de tumoracions a diferents localitzacions (FIGURA 16).

Els antígens d'histocompatibilitat de les rates s'anomenen RT i es localitzen al cromosoma 14. Aquests antígens s'hereden de manera codominant en les rates híbrides<sup>284</sup>.





**FIGURA 15: RATA DE LA SOCA CONSANGUINIA LEWIS**



**FIGURA 16: RATA DE LA SOCA HIBRIDA LBN**

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL

Mercè Hernández i González

ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010

### 3.1.3. ANATOMIA DEL BUDELL PRIM DE LA RATA

La primera porció del budell prim comença al duodè, el qual forma un semicercle que acaba després d'envoltar el còlon transvers. En aquest tram final, el budell queda suspès pel lligament equivalent al que formaria l'angle de Treitz als humans.

La segona porció o jejú comença després d'aquest angle de Treitz i es continua per l'íleon, el qual va disminuint el seu diàmetre progressivament fins anar a desembocar al cec.

Tot el budell queda lligat a la paret posterior de l'abdomen per una doble capa de mesenteri, el qual conté els vasos arterials, venosos i limfàtics. El duodè es disposa de manera mòbil excepte al seu extrem proximal, el qual es continuació del pílor, i al seu extrem distal, el qual presenta una porció curta de peritoneu a la zona on és traspasat pel còlon transvers. El jejú i l'íleon són extremadament mòbils després del seu origen.

La irrigació arterial del budell prové principalment de branques de l'artèria Mesentèrica Superior, la qual s'origina a l'Aorta distalment a la sortida del tronc celíac (FIGURA 17)<sup>285</sup>.

La porció proximal del budell prim depèn de l'artèria gastro-duodenal, branca del tronc celíac. Aquesta artèria irriga, a través dels vasos pancreàtic-duodenals, la primera meitat del duodè.

L'artèria mesentèrica superior dóna lloc a nombroses branques:

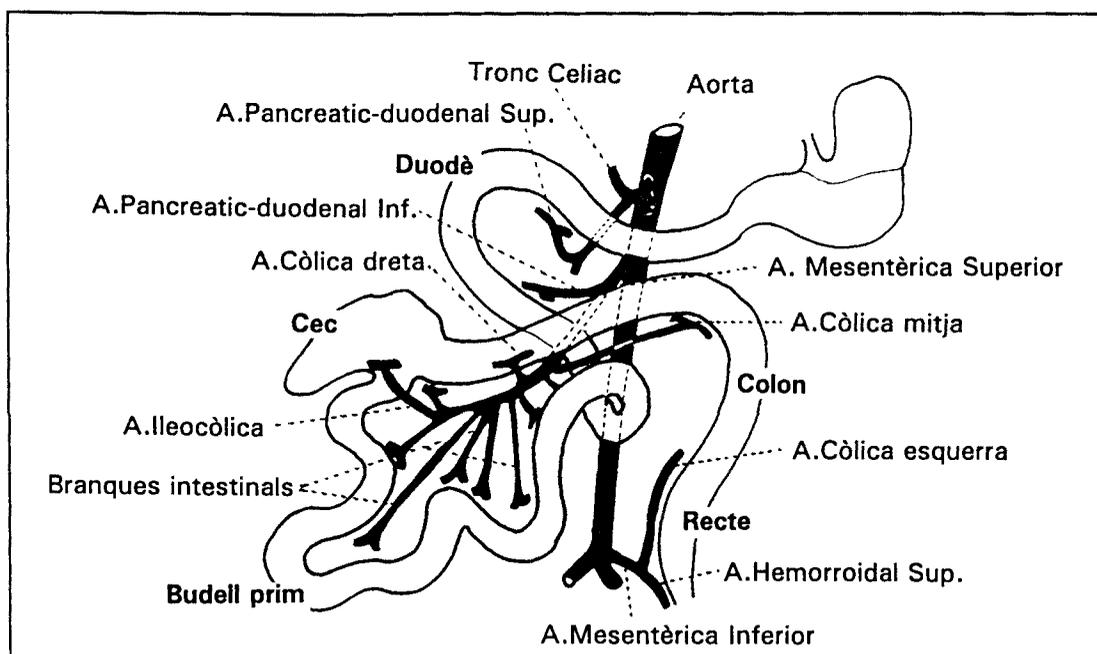
- L'artèria pancreàtic-duodenal inferior, la qual irriga la segona meitat del duodè.
- Les branques intestinals, aproximadament unes quinze, s'encarreguen de la major part del jejú i l'íleon.
- L'artèria íleo-còlica irriga l'íleon terminal, el cec i l'inici del còlon ascendent.
- L'artèria còlica dreta vascularitza la resta del còlon ascendent.
- L'artèria còlica mitjana s'encarrega del còlon transvers i s'anastomosa amb branques de l'artèria mesentèrica inferior.

Les branques intestinals, travessen el mesenteri en direcció a les nanses jejunals i ileals. Cada branca es divideix en dues de més petites, essent una proximal i l'altra distal, les quals s'anastomosen entre sí per a formar unes arcades vasculars contínues que es situen paral·lelament a uns 2mm de la vora mesentèrica del budell. Unes branques encara més fines s'originen de les arcades vasculars per a irrigar les cares ventral i dorsal de la paret de les nanses intestinals (FIGURA 18)<sup>286</sup>.

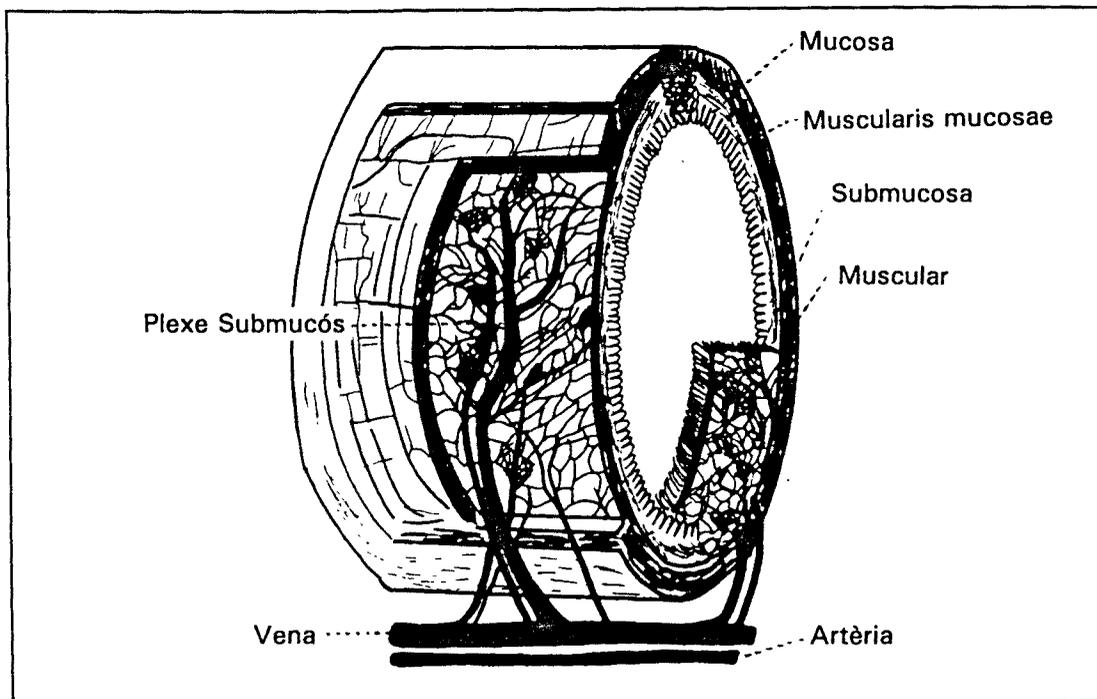
El drenatge venós del budell prim es realitza cap a la vena mesentèrica superior, la qual recull també la sang del cec i còlon a través de la vena mesentèrica inferior i les venes còlica mitjana i còlica dreta. El tronc venós de la porta recull la sang de la vena mesentèrica superior, la vena esplènica i la vena pilòrica.

Els vasos limfàtics del budell drenen cap a un conducte que travessa el Mesenteri i s'envolta d'una sèrie de ganglis limfàtics durant el seu trajecte.

El component nerviós del budell prim consta d'una innervació intrínseca basada en els plexes submucós i mientèric i d'una innervació extrínseca, la qual arriba a través de fibres ganglionars parasimpàtiques i fibres postganglionars simpàtiques<sup>287</sup>.



**FIGURA 17: IRRIGACIÓ ARTERIAL DEL BUDELL PRIM A LA RATA**



**FIGURA 18: VASCULARITZACIÓ DE LA PARET INTESTINAL**

### **3.1.4. MORFOLOGIA FUNCIONAL DE LA MUCOSA INTESTINAL**

L'epiteli intestinal es situa estratègicament de manera que forma una interfase entre el material present a la llum intestinal i els vasos sanguinis i limfàtics. Tots els elements existents a la llum intestinal han de travessar l'epiteli o bé han estat secretats per ell.

A més de regular aquests processos d'absorció i secreció, l'epiteli intestinal també actua sobre els nutrients tot efectuant reaccions de síntesi i degradació durant el pas al seu través. Es per a facilitar aquestes diverses funcions que l'epiteli intestinal precisa d'una organització cel.lular complexa i altament diferenciada.

#### **3.1.4.1. Organització i arquitectura de la mucosa del budell prim**

La superfície luminal del budell prim s'organitza de manera que l'àrea de contacte amb els elements intraluminals sigui la màxima possible. En molts mamífers, però no en la rata, es formen una sèrie de plegaments circulars de mucosa i submucosa visibles macroscòpicament i que són els plects connivents o vàlvules de Kerkring<sup>288</sup>.

A més augment, poden observar-se les vellositats intestinals, les quals es constitueixen per evaginacions de la mucosa formades d'epiteli i làmina pròpia (FIGURA 19). Les projeccions de les vellositats cap a la llum intestinal augmenten la superfície absorbentiva de 7 a 14 vegades. Les vellositats són de forma foliàcia al duodè i digitiformes a l'íleon<sup>287</sup>.

Entre els punts d'inserció de les vellositats a la mucosa es forma la llum d'unes glàndules tubulars simples anomenades Criptes de Lieberkühn. L'epiteli de les vellositats es continua amb el de les criptes i és en elles on es realitza la renovació cel.lular. La intensa activitat mitòtica de les cèl.lules de la porció basal permet una renovació ràpida de l'epiteli intestinal, la qual es produeix pel desplaçament ascendent de les cèl.lules formades cap a la vellositat fins a descamar-se a nivell de l'extrem distal. A la rata s'estima que aquesta substitució dura entre 1.35 a 1.57 dies<sup>285,289</sup>.

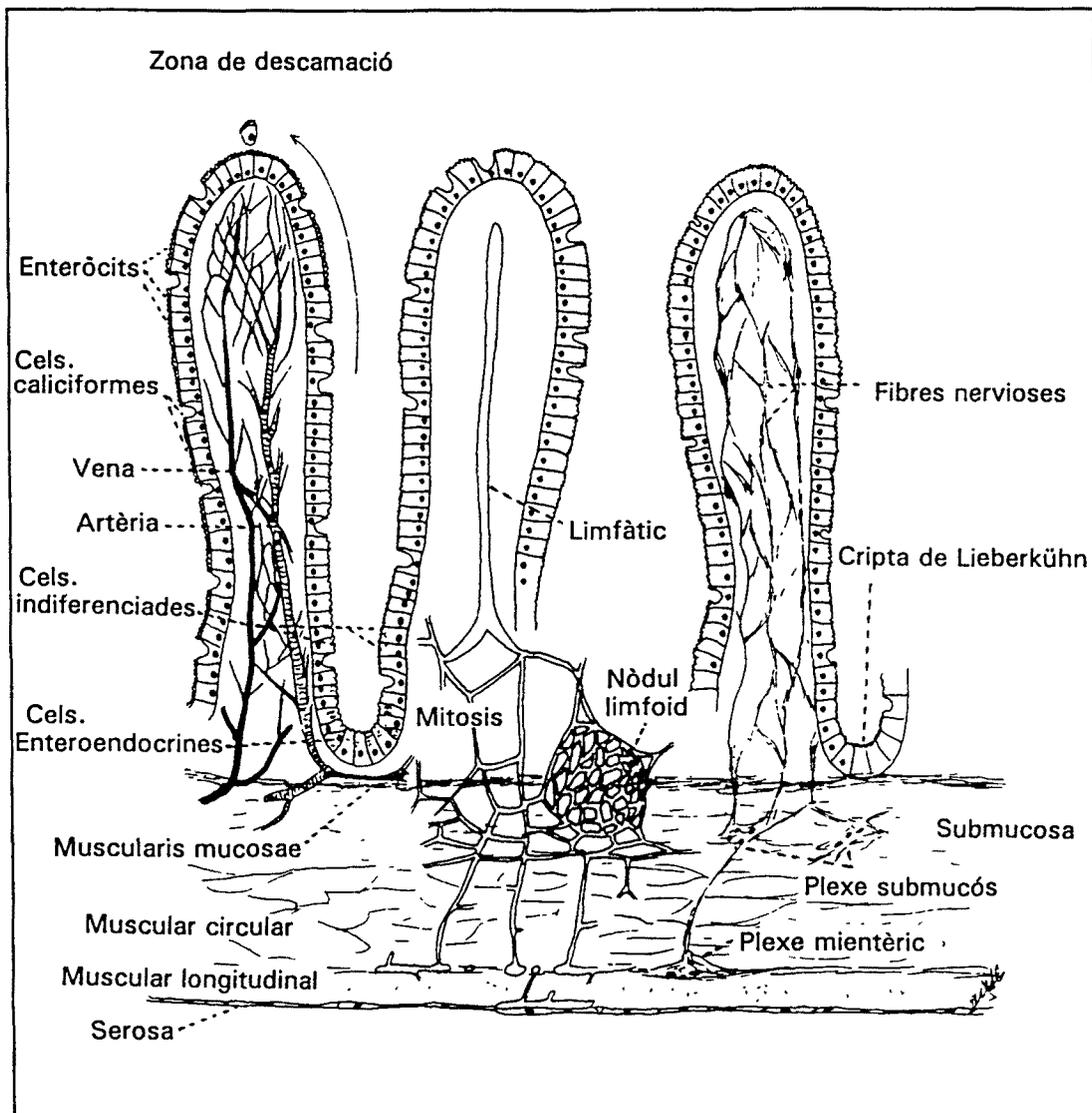


FIGURA 19: ORGANITZACIÓ HISTOLÒGICA DE LA PARET INTESTINAL

L'epiteli intestinal es mostra indiferenciat a les cèl.lules de la porció basal de les criptes i es va diferenciant gradualment durant l'ascens cap a la punta de les vellositats<sup>286</sup>.

La mucosa del budell prim es pot considerar formada per 3 capes diferents (FIGURA 19). La més profunda és la *muscularis mucosae*, formada per una capa contínua i fina, d'unes 3 a 10 cèl.lules de gruix, la qual separa la mucosa de la submucosa. La contracció de la *muscularis mucosae* sembla contribuir al moviment de les vellositats i al buidament del contingut de les criptes<sup>288</sup>.

La capa mitjana de la mucosa és la làmina pròpia, la qual està formada per bandes de teixit connectiu situades entre l'epiteli i la *muscularis mucosae*. Les cèl.lules contingudes a la làmina pròpia són variades i generalment amb funció immunològica: cèl.lules plasmàtiques, limfòcits i macròfags. A més, la làmina pròpia també posseeix alguns eosinòfils, mastòcits, fibroblasts, fibres nervioses amielíniques, vasos sanguinis i limfàtics i algunes fibres musculars llises, tot disposant-se aquestes darreres estructures a l'eix de les vellositats. Com elements acel.lulars, la làmina pròpia conté col.lagen i fibres elàstiques.

La làmina pròpia té un nombre important de funcions derivades dels elements que conté. Les cèl.lules immunocompetents que posseeix donen al budell la seva capacitat immunològica. En contenir els vasos sanguinis i limfàtics, la làmina pròpia prové a l'epiteli dels mitjans de transport necessaris pel material absorbit.

Les vellositats presenten al seu eix una arteriola que ascendeix des de la base i, en arribar a l'extrem distal, es divideix en una xarxa de capil.lars que circulen en sentit descendent i pròxims a la superfície basal de l'epiteli. Aquests capil.lars estan constituïts per una fina paret de cèl.lules endotelials, la qual presenta fenestracions de 0.05 a 0.1 $\mu$ m de diàmetre encarades cap a la superfície basal de les cèl.lules epitelials i que permeten el pas del material cap a la sang<sup>288</sup>.

Els vasos limfàtics es localitzen a l'eix de les vellositats més centralment que els vasos sanguinis. A diferència de l'endoteli dels capil.lars sanguinis, el dels vasos limfàtics no posseeix fenestracions. Malgrat que les connexions entre les cèl.lules endotelials dels limfàtics són nombroses i tancades, existeixen una sèrie de forats de

tamany suficient per a permetre el pas de macromolècules i quilomicrons entremig d'aquestes cèl.lules. El pas de les macromolècules i partícules lipoproteíniques a la llum dels vasos limfàtics també sembla realitzar-se per un sistema de transport vesicular a través del citoplasma de les cèl.lules endotelials, però cap d'aquestes dues formes de transport estan encara ben dilucidades<sup>288</sup>.

La tercera capa de la mucosa intestinal es troba en contacte directe amb el contingut intraluminal i és l'epiteli simple cilíndric propi del budell prim. Aquesta capa de cèl.lules que forma l'epiteli es separa de la làmina pròpia subjacent per una membrana basal formada per dues porcions:

- Una làmina basal aplicada directament a la superfície basal de l'epiteli i visible al microscopi òptic.
- Una altra capa més profunda, de fibres reticulars i teixit connectiu glicoproteínic, la qual adhereix la làmina pròpia a la làmina basal.

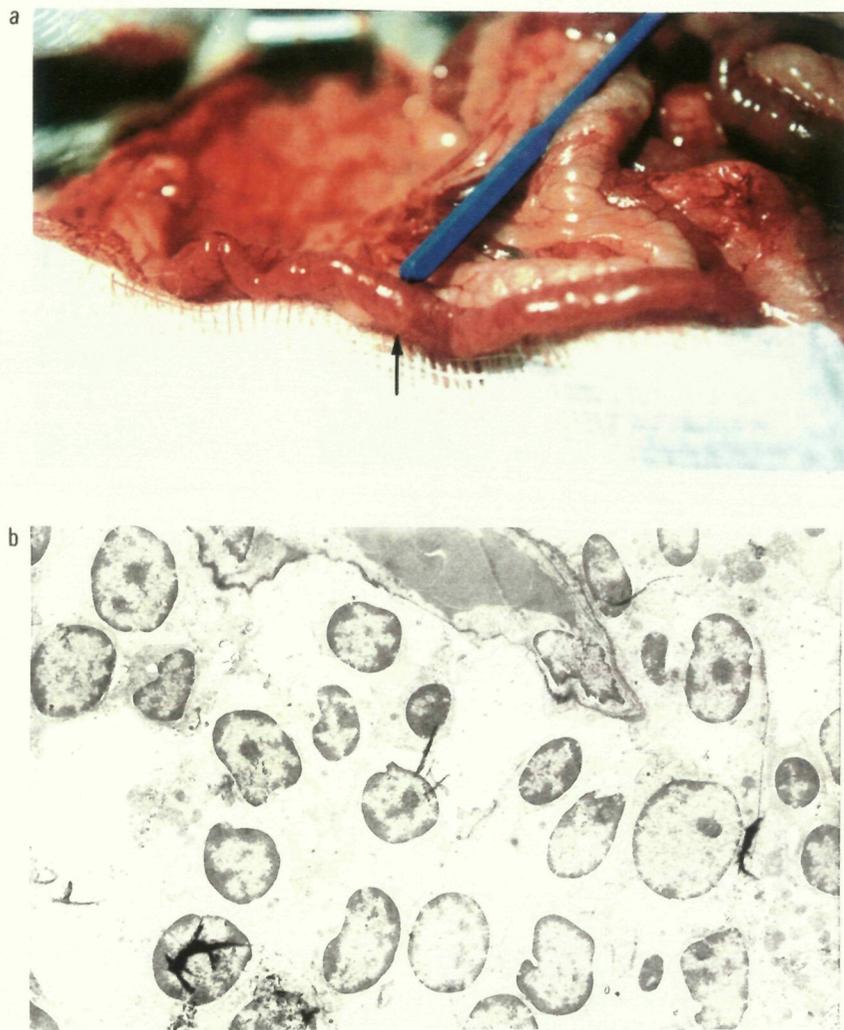
La superfície luminal del budell prim queda distorsionada focalment i sobretot a la porció ileal, per uns agregats de teixit limfoide que són les plaques de Peyer. Aquestes formacions s'extenen des de la submucosa per tal d'entrar en contacte directe amb l'epiteli, el qual mostra un aprimament a aquest nivell. Les plaques de Peyer també protueixen externament a la paret del budell prim i poden ser visibles macroscòpicament (FIGURA 20).

L'epiteli intestinal està constituït per una sèrie de cèl.lules que seran descrites a l'apartat següent.

A més de la mucosa, la paret intestinal posseeix més externament una capa muscular formada per una xarxa de fibres elàstiques i dues capes de musculatura llisa, una d'interna circular i una altra externa longitudinal (FIGURA 19).

La part més externa de la paret del budell prim és la serosa, la qual es constitueix per una làmina contínua de cèl.lules epitelials planes anomenada mesoteli. El mesoteli es separa de la capa muscular per una capa fina de teixit connectiu lax.





**FIGURA 20: PLACA DE PEYER: a) Aspecte macroscòpic. b) Imatge al Microscopi Electrònic de Transmissió (2.000x a l'augment original).**

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL

Mercè Hernández i González

ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010

**UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI  
FACULTAT DE MEDICINA I CIÈNCIES DE LA SALUT  
DEPARTAMENT DE MEDICINA I CIRURGIA  
UNITAT DE CIRURGIA**

**ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL  
DEL TRASPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL**

**TESI DOCTORAL  
MERCÈ HERNÁNDEZ I GONZÁLEZ**

**REUS, 1994**

### 3.1.4.2. Estructura de les cèl.lules epitelials del budell prim

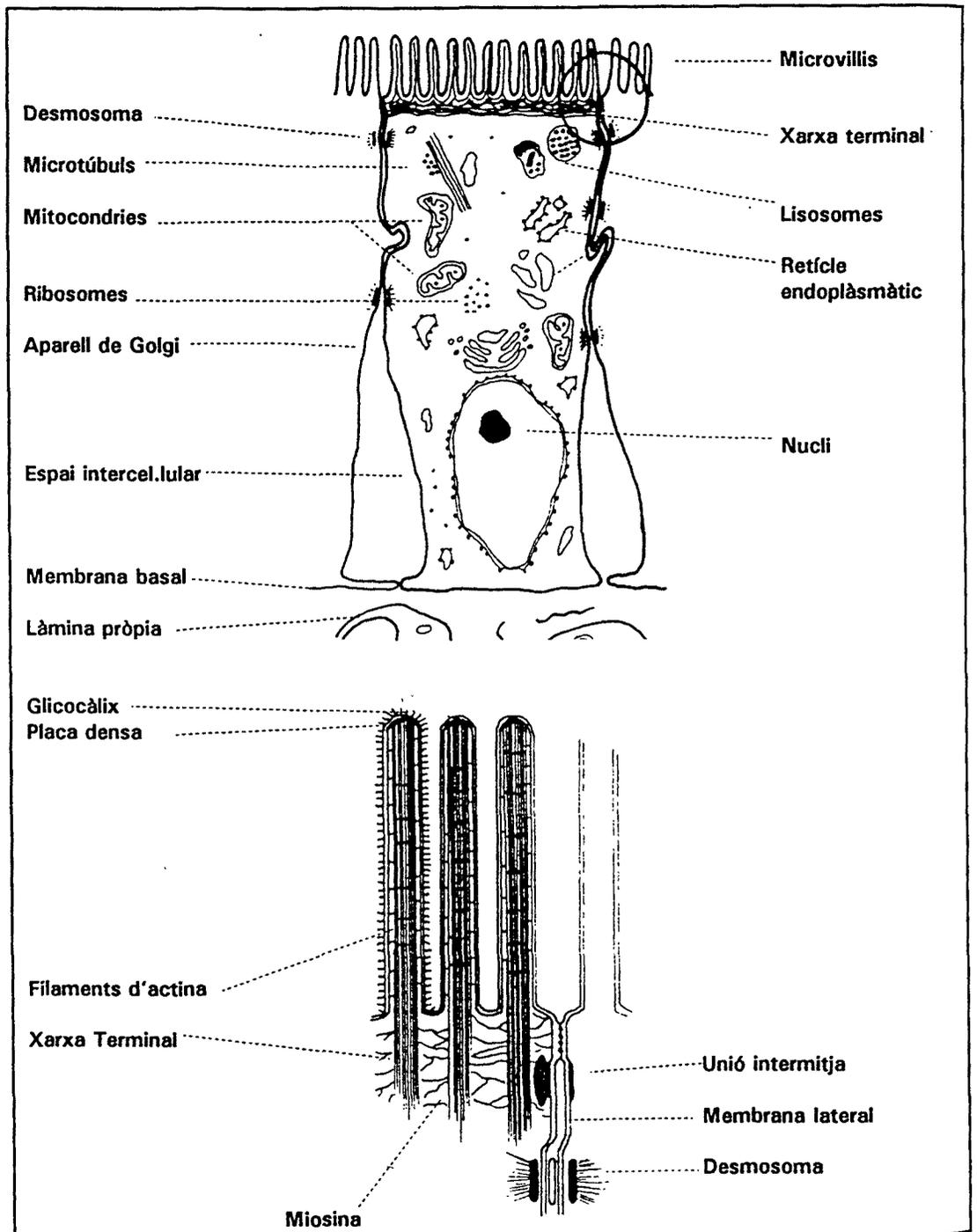
L'epiteli de les criptes està format per cèl.lules indiferenciades en intensa activitat mitòtica, cèl.lules caliciformes, una gran varietat de cèl.lules endocrines i per cèl.lules de Panneth.

L'epiteli de les vellositats inclou un gran nombre de cèl.lules absortives o enteròcits, cèl.lules caliciformes i algunes cèl.lules epitelials endocrines. Addicionalment, a l'àpex de les plaques de Peyer de l'íleon existeixen unes cèl.lules epitelials especialitzades anomenades cèl.lules M (FIGURA 20).

#### A) CEL.LULES ABSORTIVES

Els enteròcits són cèl.lules de tipus columnar les quals presenten al seu polus apical una vora estriada o en raspall. El nucli té forma ovoïdal i es situa en la meitat basal de la cèl.lula. El citoplasma de la zona supranuclear és el que posseeix la majoria d'òrgans intracel.lulars, tal com s'esquematitza a la FIGURA 21. La vora en raspall o membrana de microvillis permet un increment de la superfície absortiva de 14 a 40 vegades<sup>288</sup>. La membrana apical de les cèl.lules absortives s'observa al microscopi electrònic de transmissió amb un aspecte trilaminar. Aquesta membrana presenta un gruix de 110 Å, superior al d'altres membranes citoplasmàtiques de cèl.lules eucariotes i inclús al de la seva pròpia porció basolateral<sup>290</sup>.

La superfície dels microvillis o glicocàlix consisteix en nombrosos filaments de glicoproteïnes disposats de forma més o menys perpendicular a la membrana. Al glicocàlix i la membrana dels microvillis tenen lloc processos digestius importants. Un gran nombre d'enzims tals com les disacaridases i peptidases són molt importants per a la digestió terminal dels hidrats de carboni i pèptids de la dieta, abans de llur absorció. A més, altres proteïnes no enzimàtiques intervenen com a receptors específics per la captació de cobalamina, factor intrínsec de Castle,  $\text{Ca}^{2+}$  i sals biliars. També es postula sobre la responsabilitat d'aquest transport mitjançat per proteïnes del co-transport de  $\text{Na}^+$  i D-glucosa i de  $\text{Na}^+$  i aminoàcids<sup>288</sup>.



**FIGURA 21: ESQUEMATITZACIÓ D'UNA CEL.LULA INTESTINAL ABSORTIVA I DETALL DE LES MICROVELLOSITATS**

La composició enzimàtica de la membrana dels microvillis varia a les diferents porcions del budell prim, amb les consegüents implicacions funcionals. L'activitat específica de l'alcalin-fosfatasa, lactasa i sucrasa-isomaltasa és substancialment més important al budell proximal que al distal de la rata. En humans i altres mamífers, el receptor del factor intrínsec de Castle per a l'absorció de cobalamina es situa selectivament a la membrana apical del budell prim distal. Però les diferències bioquímiques i funcionals de les membranes dels microvillis al llarg del budell prim no són ben conegudes<sup>288</sup>.

En comparació amb les cèl.lules absorptives de les vellositats, les cèl.lules indiferenciades de les criptes no presenten activitat enzimàtica de disacaridases, alcalin-fosfatasa i dipeptidasa, degut a una suposada diferència en la composició glico-protèica del seu glicocàlix<sup>288</sup>.

La superfície lateral dels enteròcits presenta a la zona apical una estructura d'unió intercel.lular anomenada *Zona occludens*, la qual marca la separació entre la membrana dels microvillis i la membrana baso-lateral de la cèl.lula (FIGURA 21). La composició bioquímica, apariència i funció de la membrana baso-lateral és totalment diferent de l'explicada per a la membrana dels microvillis.

Morfològicament, la membrana baso-lateral és més fina que la dels microvillis i forma plecs que es projecten cap el citoplasma de les cèl.lules veïnes. L'espai intercel.lular s'eixampla durant els processos d'absorció, tot essent aquesta expansió més important a la part basal de les cèl.lules (FIGURA 21). Però en arribar a la zona basal, l'espai intercel.lular es tanca bruscament per una prolongació fina del citoplasma (*macula adherens*), de manera que les cèl.lules adjacents s'aproximen de nou.

Amb el microscopi electrònic de transmissió també s'observa que la membrana lateral presenta alguns desmosomes o *zonula adherens* situats en la porció proximal. El fet que aquestes estructures siguin més observables durant els processos d'absorció d'aigua i electròlits suggereix que el tamany de l'espai intercel.lular ve regulat, al menys en part, pel flux de soluts i per gradients osmòtics<sup>288</sup>.

La porció basal de la membrana baso-lateral dels enteròcits es troba unida

fermament a la làmina basal, la qual presenta forats suficientment grans per a permetre el pas de quilomicrons i altres lipo-proteïnes des de l'espai intercel·lular cap a la làmina pròpia, i de cèl·lules de la làmina pròpia com els limfòcits cap a l'espai intercel·lular. Ocasionalment, unes prolongacions a modus de pseudòpodes del citoplasma basal dels enteròcits es projecten cap a la làmina pròpia i contacten amb les estructures d'aquesta a través dels forats de la làmina basal. Aquestes prolongacions són abundants en el budell prim de la rata i del conill durant la maduració fetal i el període postnatal, però són infreqüents en altres mamífers, sense que es coneixi el significat de tal fet<sup>288</sup>.

En relació a la funció de la làmina basal de l'epiteli intestinal queden encara moltes qüestions a respondre. No és ben conegut el paper regulador de la làmina basal pel que fa a l'intercanvi de material entre l'epiteli amb l'espai intercel·lular i la làmina pròpia. La composició bioquímica de la membrana baso-lateral dels enteròcits reflecteix la seva especialització en processos de transport de substàncies però d'una forma diferent a com ho faria la membrana dels microvillis. La membrana basolateral presenta una activitat específica de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> -ATP a la qual manca la membrana apical, motiu pel qual es considera que aquesta membrana baso-lateral és important pel transport d'aigua i electròlits<sup>288</sup>.

El citoplasma de les cèl·lules intestinals absortives presenta una sèrie de microtúbuls localitzats principalment als dos terços apicals, però inexistents a la zona basal paranuclear. Aquests microtúbuls faciliten el moviment citoplasmàtic dels lípids absorbits i de les glico-proteïnes associades a la membrana.

També a la porció apical dels enteròcits es localitzen uns microfilaments de miosina i altres proteïnes que s'orienten paral·lelament a la vora en raspall i formen en conjunt l'anomenada xarxa o filtre terminal. Aquests microfilaments es relacionen amb d'altres que s'extenen per l'interior de cada microvilli i que constitueixen el seu citoesquelet. Cada microvellositat presenta uns vint microfilaments d'actina al seu eix. La interacció dels feixos de filaments d'actina de les microvellositats amb els de miosina i altres proteïnes del filtre terminal permet la deformació del citoplasma apical en forma convexa, en fer que la punta de les microvellositats tendeixi a separar-se,

però sense donar lloc a l'escurçament dels microvillis. La importància funcional del citoesquelet no és tampoc ben coneguda<sup>286,287,288</sup>.

El nucli dels enteròcits té forma ovalada i es situa al terç inferior de la cèl.lula. La membrana nuclear està formada per una doble capa la qual presenta porus i cisternes paranuclears.

El reticle endoplasmàtic llis és més abundant a la meitat superior de les cèl.lules, sobretot al citoplasma proper a la xarxa terminal i, generalment, presenta una disposició en forma de vesícules o túbuls.

El reticle endoplasmàtic rugós es distribueix pel citoplasma d'una manera més uniforme i està format principalment per cisternes aplanades.

Els ribosomes es disposen en forma de rosetes (polisomes) distribuïdes per tot el citoplasma.

L'aparell de Golgi queda situat a la zona supranuclear del citoplasma i, igual que en altres tipus cel.lulars, presenta una forma típica de cisternes amb vacúols perifèrics al llarg de la porció convexa i grans vacúols a la porció còncava.

El reticle endoplasmàtic llis sintetitza molècules no protèiques i participa en la glicosilació de les proteïnes. El reticle endoplasmàtic rugós, a les seves cisternes membranoses, sintetitza proteïnes destinades a la secreció o a incorporar-se a les membranes citoplasmàtiques. Els ribosomes sintetitzen proteïnes per a ser utilitzades al citoplasma cel.lular. L'aparell de Golgi té una participació fonamental en la glicosilació de les proteïnes i també actua en la secreció, enmagatzemament i modificació dels materials absorbits i sintetitzats per la cèl.lula i destinats bé a ser transportats fora de la cèl.lula o bé a incorporar-se a la membrana citoplasmàtica.

Des del punt de vista funcional, el material produït pel reticle endoplasmàtic llis, pel rugós i per l'aparell de Golgi pot considerar-se en conjunt, degut a què tots tres participen en processos de síntesi i transport que són crucials per a la funció absorbiva i digestiva dels enteròcits.

Les mitocòndries són molt abundants i metabòlicament actives en les cèl.lules absorbives del budell prim. Poden presentar-se en forma allargada o veure's arrodonides i es distribueixen per tot el citoplasma excepte per la zona propera a la

xarxa terminal.

El citoplasma dels enteròcits conté també un nombre important de lisosomes els quals posseeixen enzims del tipus de les hidrolases com la fosfatasa àcida. Els lisosomes semblen provenir de les cisternes de l'aparell de Golgi i emigren pel citoplasma, especialment a la zona subapical propera a la xarxa terminal. Quan una macromolècula exògena és absorvida per endocitosi a través de la membrana dels microvillis, és envoltada per una vesícula, dins la qual traspasa la xarxa terminal i arriba al citoplasma subapical. Aquí, la vesícula que conté la macromolècula o fagosoma es fusiona amb els lisosomes, els quals degraden el material forani i destrueixen aquell que pot resultar tòxic per a la cèl.lula. Aquest procés, anomenat heterofàgia, és important en actuar com a barrera vers substàncies nocives que podrien accedir a la circulació sistèmica<sup>288</sup>. Els lisosomes també actuen en la destrucció de material inservible del citoplasma tot incloent-hi orgànuls com mitocòndries i elements del reticle endoplasmàtic.

## **B) CEL.LULES CALICIFORMES**

Les cèl.lules caliciformes són més abundants a mida que s'avança cap el budell distal i es situen intercalades entre les cèl.lules absorptives.

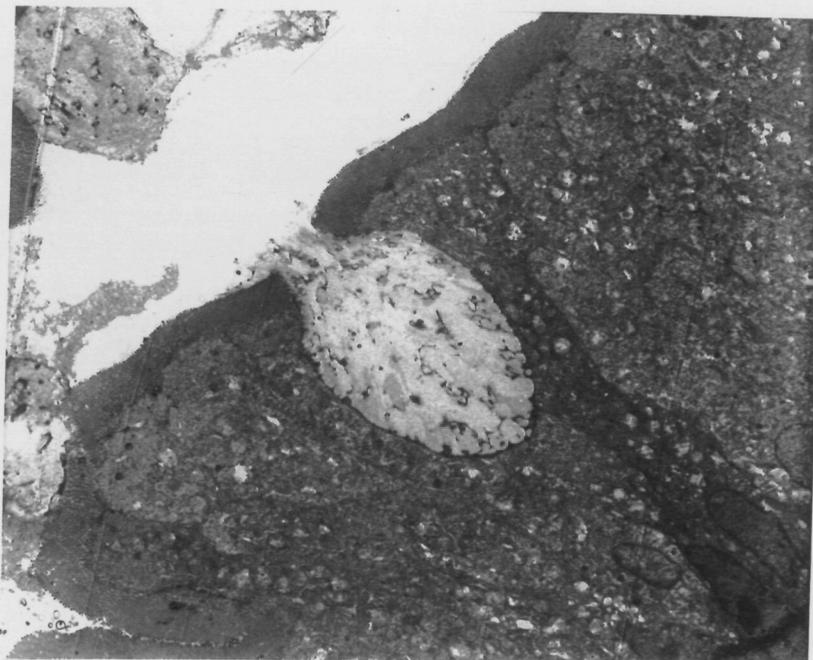
La seva regió apical, anomenada teca, es troba dilatada per la presència de nombrosos grànuls de moc mentre que la base és estreta (FIGURA 22). El citoplasma posseeix un nucli aplanat i els orgànuls es troben molt apretats entre sí. El reticle endoplasmàtic rugós es disposa paral·lelament a la base i les cares laterals de la cèl.lula. L'aparell de Golgi es situa entre el nucli i les gotes de moc que omplen la teca.

La membrana plasmàtica és llisa i amb interdigitacions laterals i pot presentar algunes microvellositats a nivell de la superfície apical lliure.

El moc secretat per les cèl.lules caliciformes és de naturalesa glicoproteínica i àcida en contenir restes d'àcid siàlic i de N-acetilglucosamina-6-sulfat. Semblen existir diferències qualitatives entre el moc segregat a les criptes i el de les vellositats, i també en relació amb els diferents segments del budell.

**Les cèl.lules caliciformes sintetitzen proteïnes a partir dels aminoàcids precursors, formen polisacàrids a partir de mono i disacàrids i participen en la glicosilació de les proteïnes<sup>286</sup>.**





**FIGURA 22: CEL.LULA CALICIFORME (Microscopi Electrònic de Transmissió  
(2000x a l'augment original)**

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL

Mercè Hernández i González

ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010

### **C) CEL.LULES DE PANNETH**

Les cèl.lules de Panneth formen grups cel.lulars al fons de les criptes i, ocasionalment, s'extenen per la porció lateral més basal d'aquestes. Aquest tipus cel.lular no s'observa al budell prim de gats, gossos i porcs<sup>288</sup>.

Presenten forma de piràmide truncada de base ampla. El nucli es situa a la meitat basal de la cèl.lula. A la porció apical posseeixen unes microvellositats rudimentàries. La xarxa terminal no està ben desenvolupada i, entre ella i el nucli, existeixen abundants grànuls de secreció provinents de l'aparell de Golgi.

Aquestes cèl.lules constitueixen una població estable i en elles no s'han observat mitosis<sup>288,288</sup>. La seva funció específica no és ben coneguda. Presenten lisosomes abundants i s'ha pogut determinar la presència de lisozim en la composició del seu producte de secreció. La capacitat del lisozim per a digerir la coberta de bacteris i microorganismes espiriliformes i l'observació de residus provinents de la degradació de protozous intestinals a dins els fagolisosomes de les cèl.lules de Panneth del budell de la rata suggereixen un paper regulador sobre la flora intestinal<sup>288</sup>.

### **D) CEL.LULES M**

Les cèl.lules M o cèl.lules epitelials associades a fol·licles limfoides són cèl.lules absortives especialitzades, les quals es situen a l'epiteli que cobreix les plaques de Peyer. No són distingibles amb el microscopi òptic. La seva superfície apical presenta orificis i microvillis curts. A la zona basal, el citoplasma protueix cap a la làmina basal. Presenten escassos ribosomes i reticle endoplasmàtic menys abundant que el de les cèl.lules absortives adjacents. Les cèl.lules M semblen realitzar el transport dels antígens intraluminals cap al teixit limfoide de les plaques de Peyer.

### **E) CEL.LULES ENDOCRINES**

Les cèl.lules entero-endocrines es localitzen de forma disseminada per la zona basal de l'epiteli intestinal, tot essent escasses a nivell del jejú i de l'íleon i estant presents tant a les vellositats com a les criptes.

Malgrat la presència de característiques morfològiques comunes, les cèl.lules endocrines constitueixen una població cel.lular molt heterogènia. La correlació de les observacions al microscopi electrònic amb l'aplicació de les tècniques immuno-histoquímiques ha aportat gran informació sobre els tipus cel.lulars, els productes de secreció i la funció d'aquestes cèl.lules<sup>286</sup>. Actualment es distingeixen més de 16 tipus diferents de cèl.lules endocrines al tracte gastro-intestinal.

En general, les cèl.lules entero-endocrines són de forma oval o piramidal a les criptes i més cilíndriques a l'epiteli de les vellositats. La major part del cos cel.lular es situa a la meitat inferior de l'epiteli i una prolongació estreta progressa fins a la llum on posseeix una petita vora de microvillis. Al microscopi electrònic, aquestes microvellositats són més llargues que les dels enteròcits, la qual cosa suggereix una funció com a quimiorceptors.

El nucli és rodó i el citoplasma més clar que el de les cèl.lules adjacents. Els grànuls de secreció varien de tamany segons el tipus cel.lular i es situen al citoplasma basal.

Els orgànuls citoplasmàtics són semblants als de les altres cèl.lules epitelials però estan menys desenvolupats. El reticle endoplasmàtic rugós varia quantitativament segons el tipus cel.lular.

La identificació dels diferents tipus cel.lulars depèn de les diferències de tamany, forma, densitat electrònica i ultraestructura dels grànuls de secreció.

#### **3.1.4.3. Funció absortiva**

Els mecanismes de transport de les hexoses a través de les membranes dels enteròcits no són coneguts totalment<sup>291</sup>. L'absorció intracel.lular de glucosa és realitzada de forma activa a través d'un transportador comú amb el  $\text{Na}^+$ , el qual es localitza a la membrana dels microvillis. La sortida de glucosa de la cèl.lula sembla produir-se per un mecanisme de difusió facilitada, sense anar lligada al transportador de  $\text{Na}^+$ . L'energia pels processos de transport actiu sembla provenir de l'acció de la  $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPasa}$  de la membrana basolateral destinada a mantenir el gradient intra i extracel.lular de  $\text{Na}^+$  i  $\text{K}^+$ .

Quan la concentració de glucosa es veu augmentada a la llum intestinal, tal com ho faria després d'un apat, la mucosa intestinal és capaç d'absorvir fins un 80% del total<sup>186</sup>.

L'absorció de monosacàrids és selectiva, és a dir, es dona amb uns monosacàrids però no amb d'altres. Això fa que la velocitat d'absorció també sigui diferent de manera que aquesta és màxima per a la galactosa i la glucosa, però més lenta, quasi el doble, per a la fructosa i d'altres hexoses. A nivell del budell prim, l'absorció de monosacàrids comença al duodè i té la màxima activitat al jejú, tot essent menor a l'íleon. En condicions normals, la digestió d'oligosacàrids és quasi completa a nivell del jejú mig.

L'absorció d'aigua es realitza per osmosi segons els gradients dels soluts als diferents nivells intra i extracel·lulars.



## **3.2. METODES**

### **3.2.1. SERIES EXPERIMENTALS**

#### **3.2.1.1. Disseny de les sèries experimentals**

Per a dur a terme aquest estudi s'han dissenyat 3 grups experimentals diferents A, B i C, cadascun dels quals consta de 3 sèries a, b i c, segons el període de temps fins el sacrifici dels animals.

**GRUP A:** Grup control en el qual es realitza una intervenció quirúrgica per tal d'excloure el budell prim del tracte gastrointestinal (nansa intestinal de tipus Thiry-Vella<sup>14</sup>). Les alteracions observades en els paràmetres valorats en aquest grup seran la base de comparació respecte els altres dos grups.

Aquest grup consta de 3 sèries, cadascuna de les quals està formada per 5 rates de la soca LEW:

**SERIE Aa:** Als animals d'aquesta sèrie se'ls practica una exclusió del budell prim del tipus Thiry Vella. Als 7 dies es realitza un test d'absorció de glucosa i es sacrifica l'animal després d'haver obtingut, per laparotomia, les mostres del budell prim exclòs per a l'estudi histològic.

**SERIE Ab:** Es practica una exclusió de Thiry-Vella i als 14 dies es realitza la prova d'absorció de glucosa i s'obté la mostra del budell prim exclòs.

**SERIE Ac:** Es realitza l'exclusió de Thiry-Vella i, passats 21 dies, els animals són reintervinguts per tal d'obtenir una mostra del budell exclòs i col·locar aquest en continuïtat amb el tracte gastro-intestinal. Als 15 dies de la reintervenció es sacrifica els animals després d'obtenir-ne les mostres del budell prim intervingut.

Tanmateix en aquesta sèrie es realitzen proves d'absorció de glucosa als 21 i 36 dies del trasplantament.

**GRUP B:** Grup de trasplantament intestinal entre rates consanguínies LEW. Els animals receptors de l'isotrasplantament intestinal no han rebut cap tractament immunosupressor.

Aquest grup també consta de 3 sèries:

**SERIE Ba:** Trasplantament heterotòpic de budell prim segons la tècnica de Monchick i Russell<sup>11</sup> i disposant el budell en forma de nansa de Thiry-Vella. Als 7 dies es realitza un test d'absorció de glucosa i els animals es sacrifiquen per tal de prendre mostres del budell trasplantat.

**SERIE Bb:** Trasplantament heterotòpic de budell prim com a l'anterior sèrie. Als 14 dies es realitzen proves d'absorció de glucosa, s'obtenen les mostres del budell prim trasplantat i es sacrifiquen els animals.

**SERIE Bc:** En un primer temps, es realitza el trasplantament heterotòpic del budell prim com a les sèries anteriors. Als 21 dies s'efectuen proves d'absorció de glucosa i els animals són relaparotomitzats per tal d'obtenir una mostra del budell trasplantat i de col·locar la resta d'aquest segment intestinal trasplantat en continuïtat amb el tracte gastrointestinal. Abans d'interposar el segment de budell trasplantat, cal realitzar la resecció intestinal d'una porció equivalent del budell propi. En aquest segon temps, es completaria el que seria un trasplantament intestinal de tipus ortotòpic. Als 15 dies de la reintervenció, es procedeix al test d'absorció de glucosa i es sacrifiquen els animals per a prendre les mostres del budell prim trasplantat.

**GRUP C:** Aquest grup representa el model per a estudiar els efectes del rebuig i la immunosupressió sobre el budell prim trasplantat. En els animals d'aquest grup es realitza l'alotrasplantament intestinal tot utilitzant rates de la soca híbrida LBN com a donadores i rates de la soca pura LEW com a receptores. Els animals receptors reben tractament immunosupressor amb Ciclosporina A.

El Grup C també està format per 3 sèries:

**SERIE Ca:** Sèrie de trasplantament de budell prim heterotòpic amb dos estomes o de tipus Thiry-Vella. Als 7 dies, es realitza la prova d'absorció de glucosa i el sacrifici posterior dels animals per a obtenir la mostra del budell prim trasplantat.

**SERIE Cb:** Igual que a l'anterior sèrie, es practica el trasplantament intestinal heterotòpic. Les proves d'absorció de glucosa es realitzen als 14 dies i es sacrifiquen els animals per a obtenir la mostra del budell prim trasplantat.

**SERIE Cc:** Tal com es va fer en els animals de la sèrie Bc, en aquesta sèrie es realitza el trasplantament ortotòpic en dos temps. Es practiquen tests d'absorció de glucosa i es prenen mostres del budell trasplantats als 21 i 40 dies.

Les mostres de budell obtingudes de les sèries Bc i Cc als 40 dies del trasplantament han estat processades histològicament per a ser valorades al Microscopi Òptic i a l'Electrònic de Transmissió.

Cada sèrie està formada per 5 animals vàlids. Es consideren animals vàlids per a realitzar l'estudi complet aquells que sobreviuen més de 4 dies a la intervenció quirúrgica<sup>65</sup>. Es degut a això, que les sèries estan formades inicialment per un nombre variat d'animals, ja que quan un animal presenta una complicació mortal en el postoperatori, és substituït per un altre, fins arribar a un nombre de 5 animals vàlids en cadascuna de les sèries. Aquesta maniobra evita possibles interferències amb complicacions de la tècnica quirúrgica, en el moment de valorar els resultats.

Diàriament es controlen l'estat clínic dels animals intervinguts quirúrgicament, el pes i les incidències quant a morbi-mortalitat.

La TAULA 10 mostra l'esquema seguit per a les determinacions histològiques i funcionals de cada sèrie:

<b>GRUP A</b>			
<b>TEMPS</b>	<b>SERIE Aa</b>	<b>SERIE Ab</b>	<b>SERIE Ac</b>
<b>DIA 0</b>	INTERVENCIÓ Nansa Thiry-Vella MOSTRA Budell prim normal	INTERVENCIÓ Nansa Thiry-Vella MOSTRA Budell prim normal	INTERVENCIÓ Nansa Thiry Vella MOSTRA Budell prim normal
<b>DIA 7</b>	ABSORCIO DE GLUCOSA MOSTRA budell prim exclòs SACRIFICI	-	-
<b>DIA 14</b>	-	ABSORCIO DE GLUCOSA MOSTRA budell prim exclos SACRIFICI	-
<b>DIA 21</b>	-	-	REINTERVENCIÓ Interp ortotòpica ABSORCIO DE GLUCOSA MOSTRA Budell prim exclos
<b>DIA 40</b>	-	-	ABSORCIO DE GLUCOSA MOSTRA Budell prim interposat SACRIFICI

<b>GRUP B</b>			
<b>TEMPS</b>	<b>SERIE Ba</b>	<b>SERIE Bb</b>	<b>SERIE Bc</b>
<b>DIA 0</b>	INTERVENCIÓ Trasplant heterotòpic MOSTRA Budell prim normal Budell postvascularització	INTERVENCIÓ Trasplant heterotòpic MOSTRA Budell prim normal Budell postvascularització	INTERVENCIÓ Trasplant heterotòpic MOSTRA Budell prim normal Budell postvascularització
<b>DIA 7</b>	ABSORCIO DE GLUCOSA MOSTRA budell prim trasplantat SACRIFICI	-	-
<b>DIA 14</b>	-	ABSORCIO DE GLUCOSA MOSTRA budell prim trasplantat SACRIFICI	-
<b>DIA 21</b>	-	-	REINTERVENCIÓ Interp ortotòpica ABSORCIO DE GLUCOSA MOSTRA Budell prim trasplantat
<b>DIA 40</b>	-	-	ABSORCIO DE GLUCOSA MOSTRA Budell prim trasplantat SACRIFICI

<b>GRUP C</b>			
<b>TEMPS</b>	<b>SERIE Ca</b>	<b>SERIE Cb</b>	<b>SERIE Cc</b>
<b>DIA 0</b>	INTERVENCIÓ Trasplant heterotòpic MOSTRA Budell prim normal Budell postvascularització	INTERVENCIÓ Trasplant heterotòpic MOSTRA Budell prim normal Budell postvascularització	INTERVENCIÓ Trasplant heterotòpic MOSTRA Budell prim normal Budell postvascularització
<b>DIA 7</b>	ABSORCIO DE GLUCOSA MOSTRA budell prim trasplantat SACRIFICI	-	-
<b>DIA 14</b>	-	ABSORCIO DE GLUCOSA MOSTRA budell prim trasplantat SACRIFICI	-
<b>DIA 21</b>	-	-	REINTERVENCIÓ Interp ortotòpica ABSORCIO DE GLUCOSA MOSTRA Budell prim trasplantat
<b>DIA 40</b>	-	-	ABSORCIO DE GLUCOSA MOSTRA Budell prim trasplantat SACRIFICI

**TAULA 10: SERIES EXPERIMENTALS**

### 3.2.1.2. Justificació de les sèries experimentals

El disseny dels grups i sèries experimentals descrits tracta de reproduir tres situacions que afecten la morfologia i funció absortiva del budell prim.

El grup A o de control té l'objectiu d'observar l'evolució del budell prim quan aquest es troba aïllat de les secrecions digestives i de l'estímul que representa el trànsit dels nutrients a la llum intestinal. La realització d'aquest tipus d'exclusió queda justificada per la necessitat d'observar el comportament del budell per sí mateix i sense la interferència que suposaria la reacció immunològica al trasplantament. Les dades obtingudes a partir de la prova d'absorció de glucosa i de l'observació microscòpica dels talls de budell prim exclòs, a més de poder-se comparar entre sí per avaluar l'efecte del factor temps sobre aquesta disposició del budell, serveixen de base o referència a les observacions obtingudes en els altres dos grups. El prendre com a referència aquest budell exclòs es justifica perquè, durant el trasplantament heterotòpic, el budell queda situat de la mateixa manera que en la nansa simple de Thiry-Vella.

Cal també tenir en compte que, en el camp clínic, la realització en dos temps del trasplantament intestinal ortotòpic precisa d'un període inicial de trasplantament heterotòpic, durant el qual el budell també es troba aïllat de la resta del tracte gastrointestinal.

Els altres dos grups B i C, tenen com objectiu observar el comportament del budell trasplantat en dues situacions extrapolables al camp clínic. Per una banda, en el grup B, es pot observar l'evolució morfològica i absortiva de la mucosa intestinal després d'un trasplantament en el qual no té lloc la resposta immunològica de rebuig degut a la identitat immunogenètica entre donant i receptor. D'aquesta manera, en les sèries del Grup B, el trasplantament intestinal entre rates LEW permet valorar els efectes de la pròpia tècnica del trasplantament sobre la viabilitat morfològica i funcional del budell prim.

El Grup C representaria la situació clínic habitual del trasplantament, en la qual donant i receptor no presenten identitat immunogenètica i, per tant, cal un tractament immunosupressor per a evitar el rebuig. Aquest grup té com objectiu

valorar les alteracions morfològiques i absortives del budell prim trasplantat en relació a les reaccions immunològiques del rebuig i a l'efecte sobre aquestes del tractament immunosupressor amb Ciclosporina A.

Els períodes de temps de 10 minuts, 7, 14, 21 i 40 dies establerts per a les observacions funcionals i morfològiques corresponen a diferents fases evolutives. En les sèries amb trasplantament, la mostra de budell que s'obté als 10 minuts de la revascularització permet observar l'efecte immediat del rentat vascular, la isquèmia freda i la reperfusió vascular sobre la micromorfologia del budell trasplantat. Als 7 dies, es poden valorar les alteracions inicials produïdes per l'evolució del model experimental pròpiament dit, sense que aquestes observacions estiguin influenciades per factors relacionats amb la tècnica quirúrgica, els quals desapareixerien als 4 dies. El període de 14 dies seria un temps intermig en el qual ja haurien quedat exclosos els animals que haguessin patit un rebuig agut, fenomen que, en teoria, no s'hauria de donar amb el tractament immunosupressor. La interposició del budell trasplantat en continuació amb el tracte gastrointestinal després de 21 dies del trasplantament heterotòpic es realitza en haver-se observat la regeneració dels vasos limfàtics després d'aquest període de temps, tal com ja ha estat explicat en l'apartat corresponent als estudis experimentals.

Als 35-40 dies, pot observar-se el budell trasplantat després d'haver estat durant un període de temps en les que serien les seves condicions anatomo-fisiològiques normals quant a posició, secrecions digestives i trànsit dels aliments. Degut a això, les mostres finals de budell prim obtingudes de les Sèries Bc i Cc han estat processades per l'estudi amb el Microscopi Electrònic de Transmissió. Aquesta observació permet valorar la ultraestructura cel.lular de l'epiteli del budell prim trasplantat per tal de detectar alteracions intracel.lulars que podrien ser responsables de la incapacitat funcional absortiva que s'ha observat després del trasplantament intestinal.

### 3.2.1.3. Preparació preoperatòria dels animals

Després del transport des de l'estabulari d'origen (Laboratoris Panlab, S.A.), les rates necessiten un període d'adaptació d'uns 10-15 dies. Durant aquest temps, els animals són ubicats en grups de 4 d'iguals dins de gàbies de 60x35x18cm, les quals es col.loquen a una zona especial de l'estabulari on el personal extrema les mides d'higiene.

Dins l'estabulari, la rata es manté en unes condicions ideals de temperatura entre 20 i 22°C., una humitat de 60-70% i cicles de llum de 12 hores.

L'alimentació es realitza *ad libitum* a base de pinso de composició definida (Panlab, fórmula de manteniment 004<sup>R</sup>) i aigua.

Una vegada passat el període d'adaptació, la manipulació dels animals dels grups A i B és diferent de la que requereixen els del grup C, degut a què aquests darrers estaràn sotmesos a tractament immunosupressor, amb un risc consegüent d'infecció més elevat.

Prèviament a la intervenció quirúrgica, les rates corresponents als grups A i B es mantenen a les mateixes gàbies, però les del grup C es col.loquen de dos en dos en unes gàbies especialment dissenyades per animals immunodeprimits (Gàbia tipus III amb filtre referència 117012, Panlab, S.A). Aquestes gàbies tenen unes dimensions de 27x44x22cm i posseeixen una coberta amb un filtre que permet l'intercanvi gasós però limita l'entrada dels gèrmens. Per tal de facilitar l'adaptació de les rates receptores al nou habitatge, aquestes es col.loquen en les gàbies especials durant les 24 hores prèvies al trasplantament.

Amb l'objectiu de mantenir el budell prim exempt de restes alimentaris durant l'acte quirúrgic, a tots els animals a operar, donants o receptors, se'ls retira el pinso 12 hores abans de la intervenció i es manté la ingesta lliure d'aigua. La dieta hídrica prèvia també es realitza les 6 hores abans d'efectuar les proves d'absorció de glucosa.

En els animals del Grup C, el tractament immunosupressor amb Ciclosporina A s'inicia les 24 hores prèvies a la recepció del trasplantament intestinal.

#### 3.2.1.4. Anestèsia i sacrifici

Totes les intervencions quirúrgiques i proves d'absorció han estat realitzades sota anestèsia general per inhalació d'èter.

Malgrat que alguns autors es refereixen a la lentitud de l'èter per a la inducció anestèsica dels animals<sup>14</sup>, aquest ha estat utilitzat degut a la seva fàcil manipulació i ràpida eliminació, la qual permet a l'animal recuperar-se en poc temps.

A banda dels inconvenients que representen les seves característiques físiques i químiques (volàtil i inflamable), l'èter provoca irritació a les mucoses bronquials i pot predisposar a infeccions respiratòries en el postoperatori. A més la seva sobredosi porta a l'animal a una aturada respiratòria que, si no es recupera immediatament, acabarà en la mort per aturada cardíaca<sup>292</sup>.

Però, malgrat els inconvenients esmentats, l'èter és l'anestèsic més freqüentment utilitzat pels animals de petit tamany<sup>292</sup>. La hipersecreció salivar i bronquial provocada per l'èter pot inhibir-se mitjançant l'administració subcutània d'atropina en una petita dosi de 0.04mg/kg. L'aturada respiratòria es precedeix normalment de bradipnea i cianosi i, amb una experiència suficient, la detecció precoç de l'aturada permet iniciar ràpidament una reanimació cardio-respiratòria amb insuflació d'aire pel musell amb un tub de polietilè i, en cas necessari, acompanyar aquesta maniobra amb un massatge cardíac bidigital, de manera que l'animal es recupera en pocs minuts.

La inducció de l'anestèsia per inhalació d'èter requereix unes concentracions del 10 al 20% d'aquest fàrmac. Per aconseguir-les, cal introduir l'animal en una campana de vidre invertida i tancada dins la qual es col·loca un cotó fluix impregnat d'èter.

Després d'un temps de 3 a 5 minuts d'iniciada la inducció, l'animal presenta un període curt d'excitació i ansietat el qual es segueix d'una fase d'hipotonia, amb una respiració lenta i profunda la qual indica que està arribant a l'anestèsia quirúrgica.

En aquesta fase, l'animal adormit es col·loca damunt del taulell de suro on serà intervingut. El manteniment de l'anestèsia durant tot l'acte quirúrgic requereix unes concentracions d'èter de 4-5% a l'aire que respira l'animal. Aquest manteniment es

realitza tot col·locant davant del musell de la rata, l'extrem obert d'una xeringa de plàstic de 10cc sense èmbol, dins la qual hi ha una gasa impregnada d'èter.

Per tal d'anar substituint l'èter que es va evaporant, la xeringa es connecta, a través d'un tub de polietilè, amb un altra xeringa de 5 o 10cc plena d'èter líquid. Amb aquest sistema es va injectant l'anestèsic paulatinament a la gasa segons les necessitats.

Una vegada finalitzada la intervenció o, inclús, quan encara s'està suturant la pell, es retira el sistema d'inhalació i es produeix l'edució o despertar de l'animal en un temps d'uns 5 a 10 minuts. En aquest moment, es pot col·locar de nou a la gàbia on se li permetrà la ingesta inicial d'aigua i més tard de pinso.

Quan l'experimentació amb un animal arriba a la seva fi, el sacrifici es realitza per sobredosi inhalatòria d'èter en finalitzar el mateix acte anestèsic-quirúrgic de la prova d'absorció de glucosa i la laparotomia per extracció de mostres del budell.

### **3.2.1.5. Material quirúrgic**

Per a la realització de les intervencions quirúrgiques i tests d'absorció es necessari el material següent:

- Unes tisores de Mayo rectes
- Unes tisores Metzemaum
- Unes tisores fines corbes de microcirurgia
- Unes pinces rectes amb dents
- Dues pinces de dissecció fines rectes d'Adson
- Unes pinces fines corbes
- Dues pinces fines rectes de microcirurgia
- Cinc pinces hemostàtiques de Halsted-Mosquito corbes
- Quatre "bulldogs"
- Una pinça hemostàtica tipus clamp de Satinsky
- Un portagulles de Mayo
- Un portagulles de microcirurgia, preferentment de mànecs rodons
- Tres separadors de Farabeuf

**- Fils de sutura:**

- seda 4/0 i 5/0 per anastomosis intestinals i lligadures
- àcid poliglicòlic 3/0 amb agulla triangular CE-4 per tancament de laparotomies
- Polipropilè monofilat blau 8/0 amb agulla cilíndrica CV-345 per l'anastomosi vascular

*Adicionalment, per efectuar el rentat vascular del budell prim, es necessita també:*

- Un equip de perfusió de sèrum estèril
- Ringer lactat en ampolles de 500cc
- Heparina Na
- Una cànula de tipus palometa de diàmetre 21G

Com a material complementari imprescindible també cal disposar de:

- Planxes de suro de 2cm de gruix i 30x30cm de superfície on es col·locaran els animals en decúbit supí durant les intervencions
- Gases hidròfiles 20x20 esterilitzades i no esterilitzades
- Cotó fluix
- Esparadrap
- Sèrum fisiològic
- Sèrum glucosat al 5%
- Xeringues de 1, 2 i 5 cc amb agulles de 25G
- Catèters de silicona
- Guants de làtex estèrils i no estèrils
- Talles estèrils i no estèrils
- Focus de llum halògena de 100 wats
- Microscopi estereoscòpic
- Bomba d'infusió amb xeringues i catèters propis

Les intervencions sobre els animals immunodeprimits s'han realitzat amb material esterilitzat en autoclau i en condicions d'esterilitat. No ha estat així per a la resta dels animals, en els quals les intervencions han estat efectuades amb material net però no estèril.

### **3.2.1.6. Tècniques quirúrgiques**

A continuació es descriuen els tres models quirúrgics utilitzats en aquest estudi. La tècnica corresponent a la prova d'absorció de glucosa i aigua es descriurà en un apartat propi, donat que es tracta més d'una forma de monitorització funcional que d'una tècnica quirúrgica pròpiament dita.

La tècnica del trasplantament intestinal a la rata es basa en la descrita per Deltz<sup>12</sup>, la qual, a la seva vegada, aplica la tècnica descrita per Monchick i Russell<sup>11</sup> en la realització de l'anastomosi vascular. Sobre aquesta tècnica també nosaltres hem afegit modificacions personals.

## **TRASPLANTAMENT HETEROTOPIC DE BUDELL PRIM DE TIPUS THIRY-VELLA**

### **1) Extracció en l'animal donant**

La rata donadora, una vegada anestesiada, es disposa en decúbit supí sobre la planxa de suro i es fixen les seves potes amb esparadrap.

A través d'una laparotomia mitja xifo-pubiana, s'aborda la cavitat abdominal i es mobilitza el budell de manera que es disposa el cec i còlon ascendent a la banda dreta de l'animal i el budell prim a l'esquerra. Amb el budell disposat així es facilita la independització entre el budell prim i el gros, la qual es realitza per divisió del mesocòlon que els uneix i lligadura i secció dels vasos còlics drets i mitjans (FIGURA 23).

A continuació, s'aborda la zona vascular de l'eix espleno-portal per disecar i lligar la vena esplènica i alliberar la porció més distal de la vena porta, la qual serà utilitzada posteriorment com a pedicle venós del budell trasplantat (FIGURA 23).

Fet això, es realitza una reflexió del duodè cap a l'esquerra de l'animal, s'obre el retroperitoneu, es localitza l'aorta abdominal a la porció infrarenal (FIGURA 24).

Sobre l'aorta, s'identifica l'origen de l'artèria mesentèrica superior a la seva banda dreta i es procedeix a dissecar la banda esquerra de l'aorta en sentit proximal. Durant aquesta dissecció, es van lligant i seccionant totes les branques arterials pròpies d'aquesta zona, tals com l'artèria lumbar i l'artèria renal dreta, i es va preparant així el pedicle arterial del budell prim, el qual quedarà format per l'artèria mesentèrica superior en conjunt amb el seu origen aòrtic.

Per a completar la dissecció del pedicle arterial, cal girar de nou el duodè cap a la seva posició normal per tal de lligar l'artèria pancreàtic-duodenal inferior, branca de l'artèria mesentèrica superior.

Seguidament, es localitzen els extrems proximal i distal del budell i es lliguen les arcades vasculars corresponents per tal de seccionar el jejú a 1-2 cm de l'angle de Treitz i l'íleon a llur porció terminal (FIGURA 25).

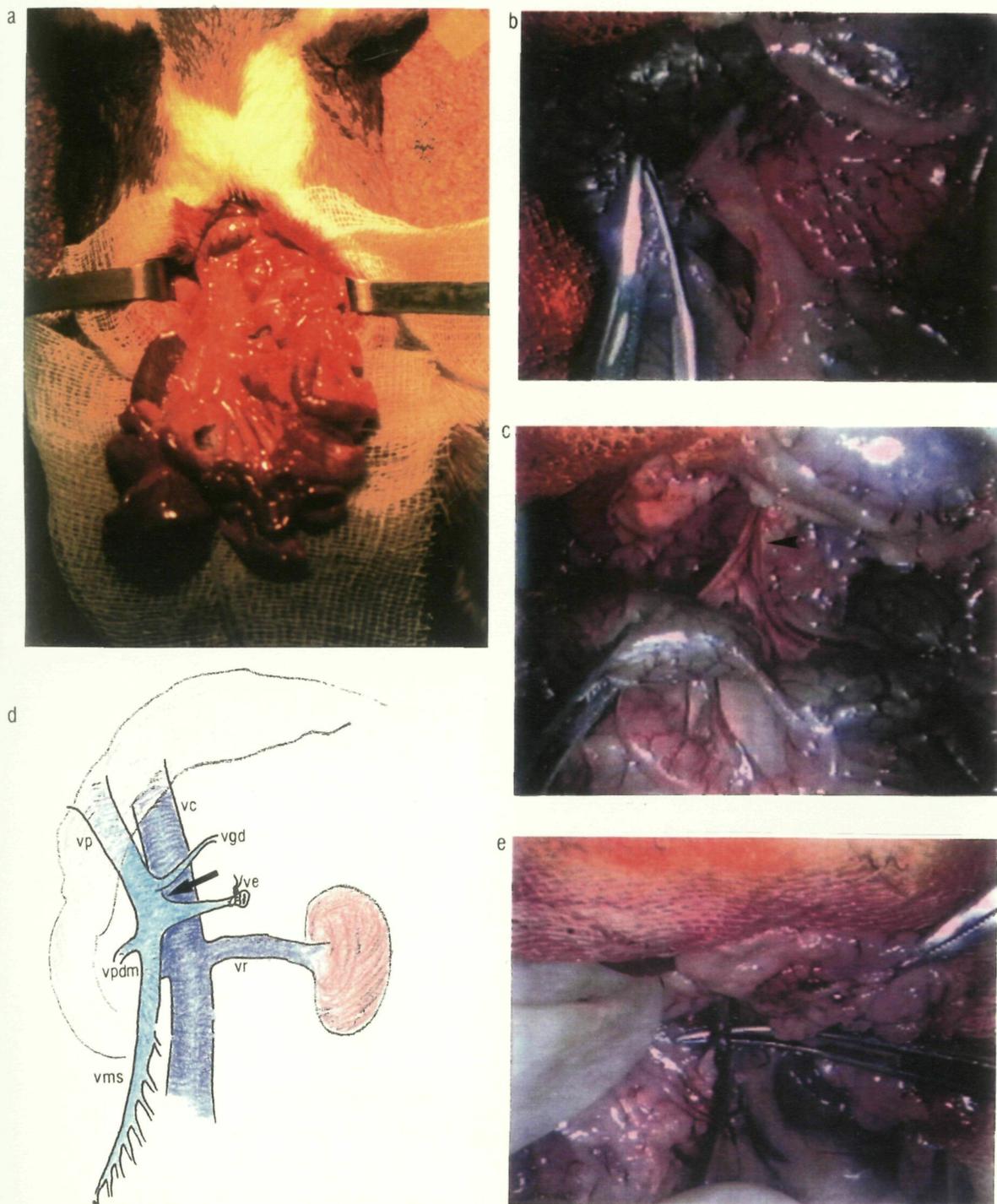
Amb el budell així preparat i els pedicles arterial i venós dissecats, es procedeix a les maniobres destinades al rentat vascular per la preservació en isquèmia freda (FIGURA 26).

L'aorta es clampa proximalment a l'origen de l'artèria Mesentèrica i es cateteritza des de la porció distal amb una cànula de tipus palometa, la qual es fixa amb una lligadura de seda.

A través de la cànula es perfundeix Ringer lactat heparinitzat al 10%, a un metre d'alçada i a 4°C, amb el qual es va realitzant el rentat de l'arbre vascular del budell prim i es facilita el seu refredament.

El rentat vascular finalitza quan s'observa el pas de sèrum net a través de la vena porta. En aquest moment, es secciona en primer lloc la vena porta i després, ràpidament es retira la cànula de l'aorta, es lliga distalment i es secciona proximalment a l'artèria mesentèrica.

El budell prim extret es col.loca submergit en Ringer lactat i dins un recipient envoltat de gel.



**FIGURA 23**

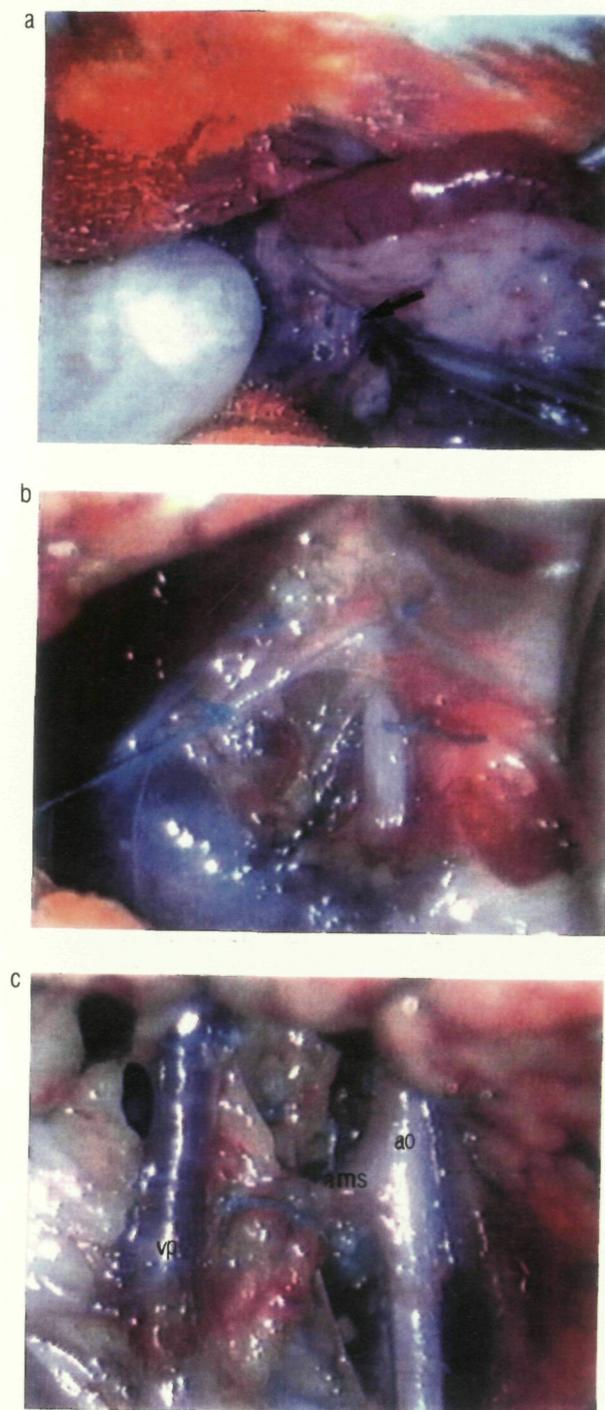
**Preparació del pedicle venós:** a/ Disposició dels budells a la rata donant. b/ Lligadura i secció dels vasos cólics drets. c/ Dissecció per a la lligadura dels vasos cólics mitjans. d/ Dibuix representatiu de la zona anatòmica del pedicle venós (vp = vena porta; vc = vena cava; vr = vena renal; vms = vena mesentèrica superior; vgd = vena gastroduodenal; ve = vena esplènica (lligada); vpdm = vena pancreaticoduodenal mitjana). La fletxa assenyala la zona de dissecció de la vena porta. e/ Dissecció de la vena porta per a l'obtenció posterior del pedicle venós.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL

Mercè Hernández i González

ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010



**FIGURA 24**

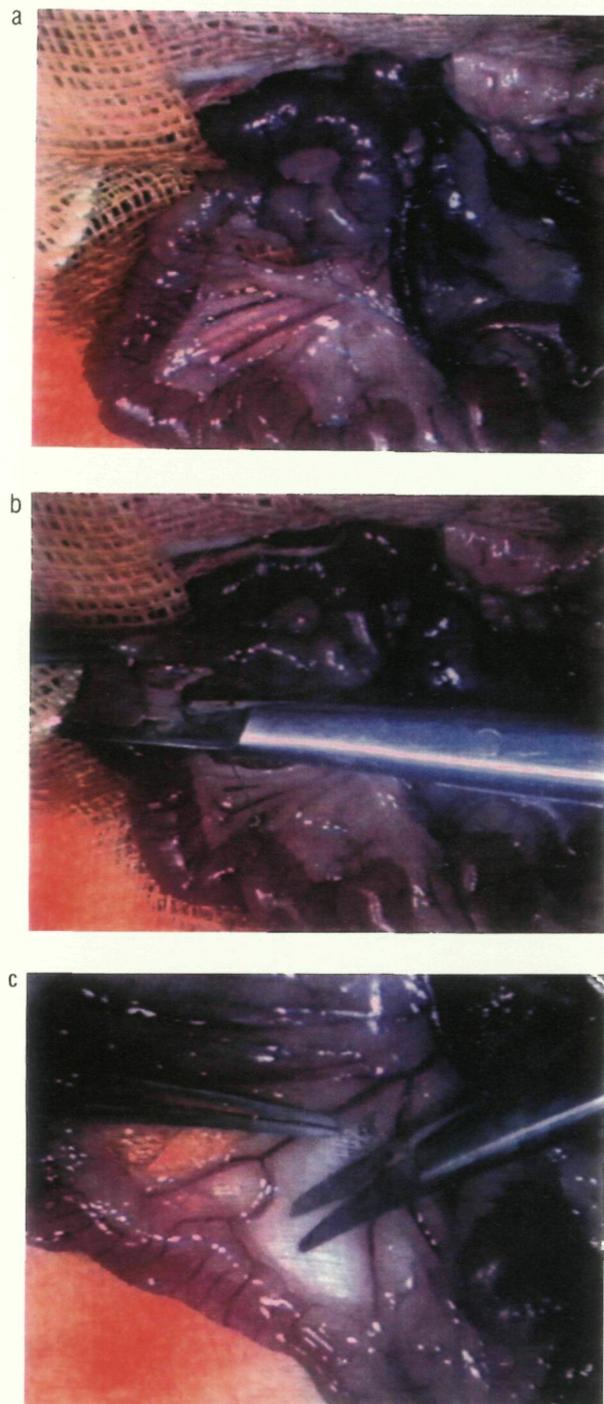
**Preparació del pedicle arterial:** a/ Obertura del retroperitoneu i localització de l'aorta. b/ Dissecció de l'aorta i lligadura de l'artèria renal dreta. c/ Pedicle vascular preparat pel rentat amb la solució de preservació (*vp* = vena porta; *ams* = artèria mesentèrica superior; *ao* = artèria aorta).

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL

Mercè Hernández i González

ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010



**FIGURA 25**

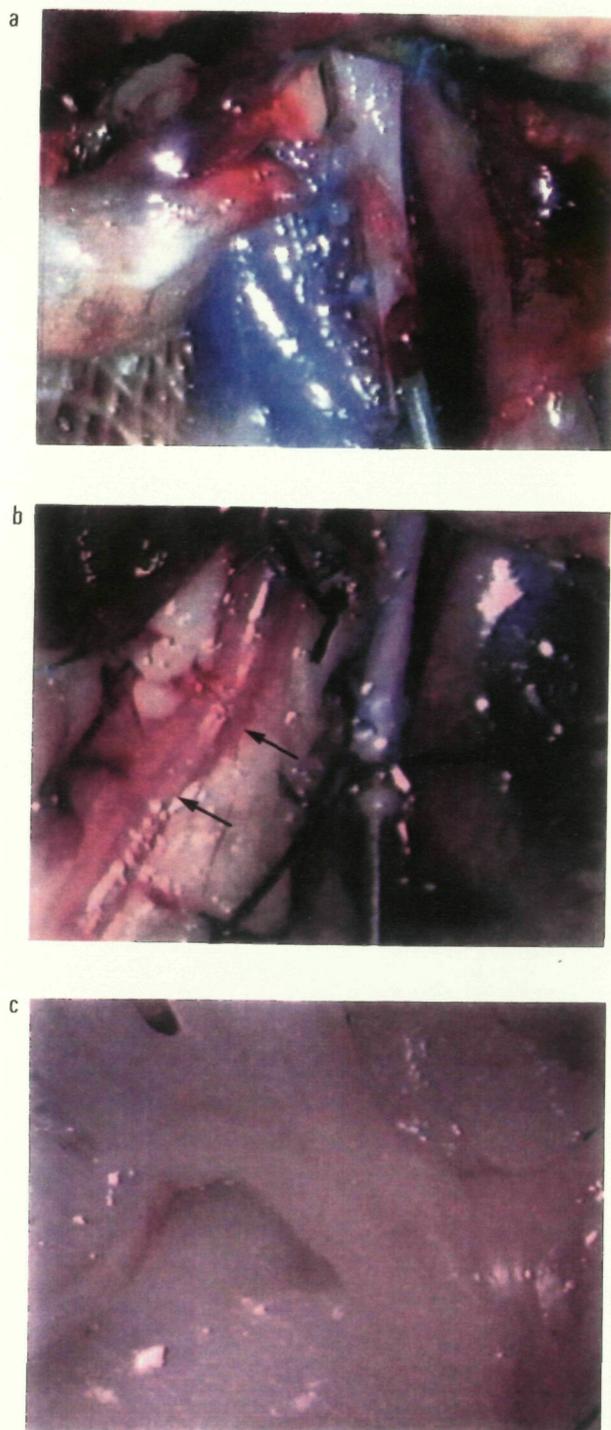
**Obtenció del segment intestinal: a/ Lligadura dels vasos jejunals. b/ Secció de l'extrem proximal. c/ Dissecció del mesenteri per a la secció de l'extrem distal a la zona de l'íleon.**

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL

Mercè Hernández i González

ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010



**FIGURA 26**

**Rentat vascular:** a/ Punció de l'aorta per a la perfusió de la solució cap a l'artèria mesentèrica superior. b/ Detall del pas de la solució a través de la vena porta (fletxa). c/ Aspecte dels vasos mesentèrics en finalitzar el rentat.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL

Mercè Hernández i González

ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010

## **2) Trasplantament heterotòpic**

Sobre la rata receptora, es practica una laparotomia mitja i s'aborda el retroperitoneu per disecar i clampar lateralment i en conjunt la vena cava inferior i l'artèria aorta a nivell infrarenal (FIGURA 27).

Amb l'ajuda d'un microscopi estereoscòpic marca Olympus, model OME, i tot utilitzant un augment de 30x, es realitza una arteriotomia i una venotomia longitudinal per tal de procedir a l'anastomosi vascular. Aquesta es realitza amb sutura de tipus monofilament de polipropilè 8/0 i en forma contínua i tèrmino-lateral, tot començant per l'anastomosi arterial entre el cilindre aòrtic donant i l'aorta abdominal de l'hoste i continuant per l'anastomosi venosa entre la vena porta donant i la vena cava inferior del receptor.

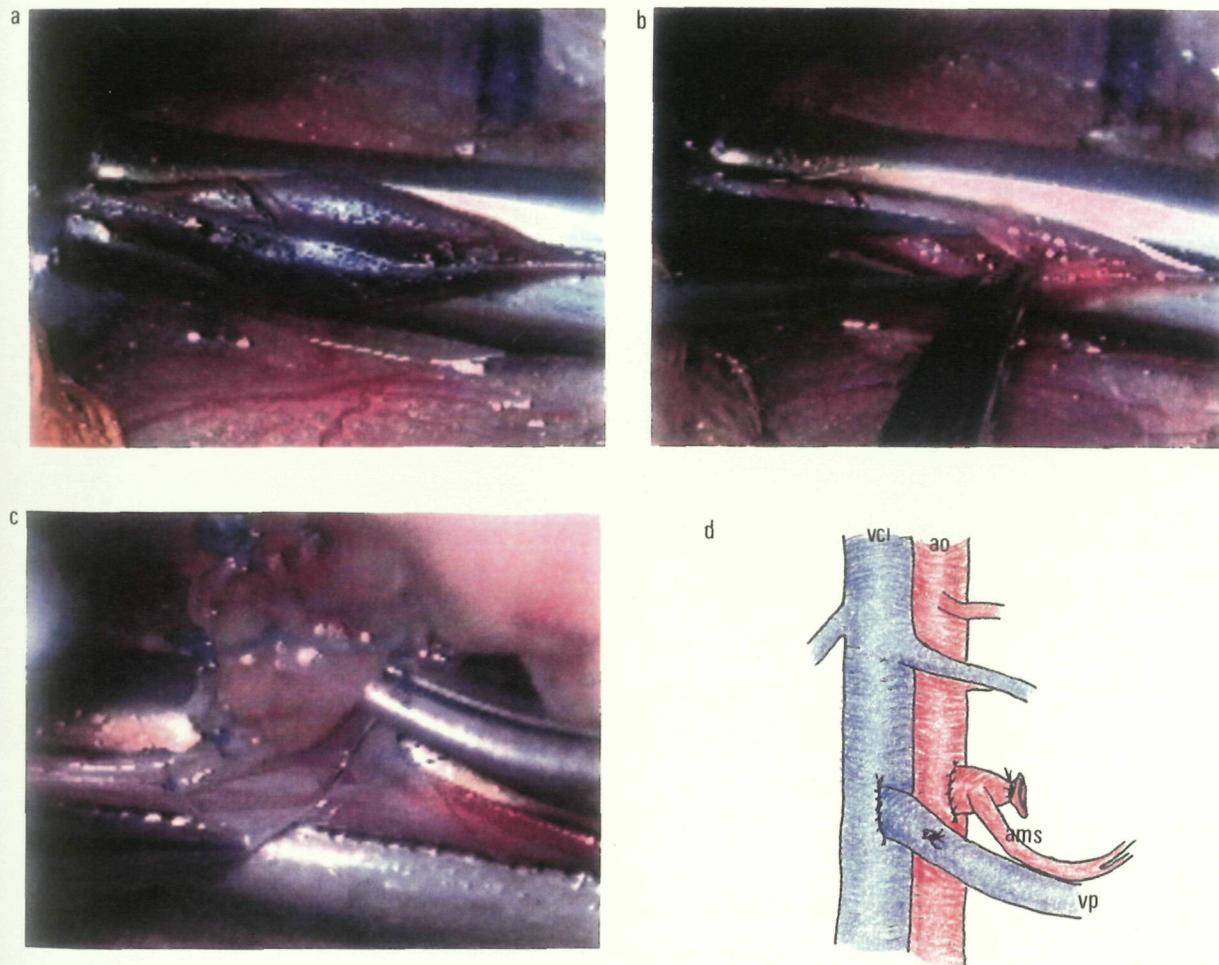
Finalitzada l'anastomosi vascular, es retira lentament el clamp, tot protegint les línies de sutura amb cotó fluix, i es va comprovant la reperfusió progressiva dels vasos mesentèrics i dels de la pròpia paret intestinal. Després d'uns minuts, la coloració que adquireix el budell trasplantat es quasi indistingible de la del budell prim normal.

Quan s'observen zones mal vascularitzades, generalment als extrems jejunals i ileals, es procedeix a la seva resecció per tal d'evitar problemes posteriors.

La longitud del budell viable es medeix amb un fil de sutura de gruix superior al 0, amb el qual es van reseguint les nanses intestinals. Aquesta medicació serà útil per a posteriors càlculs relacionats amb l'absorció.

Els extrems proximal i distal del budell trasplantat es fixen amb sutura descontínua de seda 4/0 a la paret abdominal de la banda dreta de la rata en forma d'estomes, tal com es mostra a la FIGURA 28.

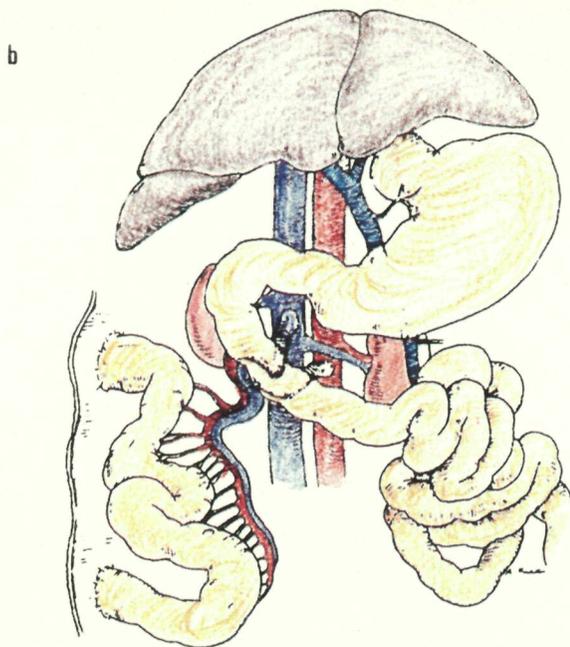




**FIGURA 27**

**Trasplantament heterotòpic:** a/ Clampatge lateral i conjunt de l'aorta i la vena cava inferior a la zona infrarenal. b/ Arteriotomia. c/ Anastomosi arterial. d/ Dibuix representatiu de l'anastomosi vascular (vp = vena porta; vci = vena cava inferior; ams = artèria mesentèrica superior; ao = artèria aorta).

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI  
ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL  
Mercè Hernández i González  
ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010



**FIGURA 28**

**Estomes: a/ Fixació dels extrems intestinals a la paret abdominal. b/ Dibuix representatiu de la disposició del budell en el trasplantament heterotòpic.**

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL

Mercè Hernández i González

ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010

## **INTERPOSICIO ORTOTOPICA**

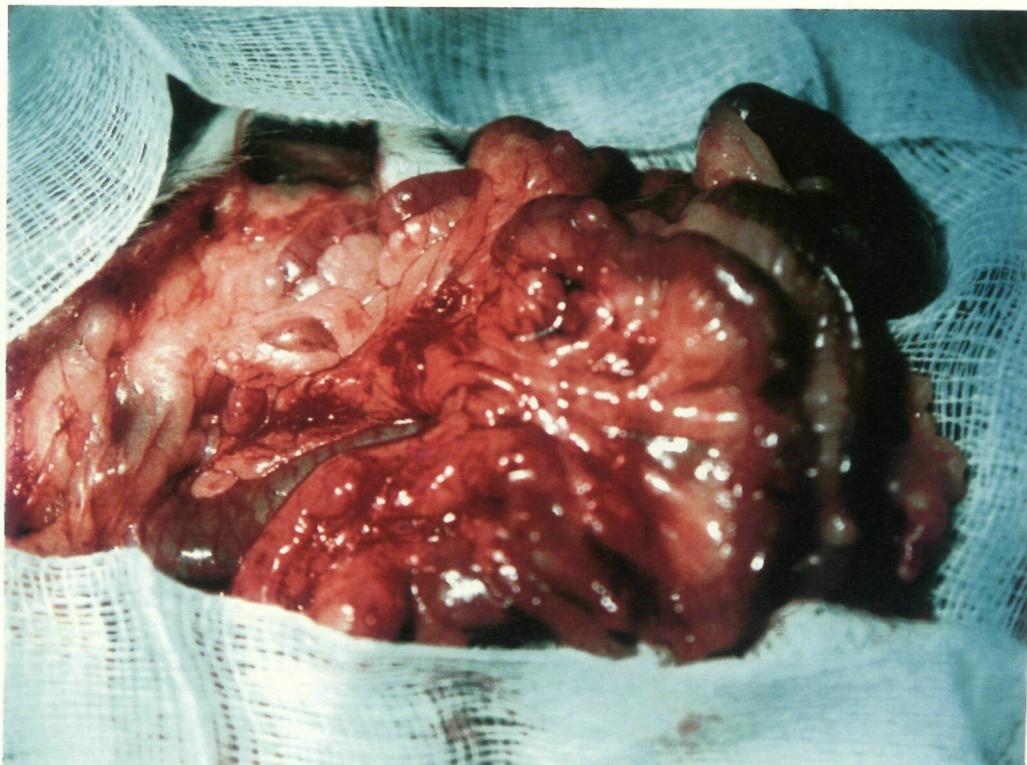
Als 21 dies de realitzat el trasplantament heterotòpic, es procedeix de nou a una laparotomia mitja a través de la qual s'arriba a la cavitat abdominal i s'identifiquen les nanses corresponents al budell prim trasplantat i al propi (FIGURA 29).

Després de seccionar les adherències que poden estar unint les nanses dels budells, es realitza la resecció d'un segment de budell prim propi de llargada equivalent al trasplantat. La resecció es realitza prèvia lligadura amb seda 5/0 dels vasos mesentèrics corresponents i de les arcades de les zones de secció, les quals es situen en la zona proximal del jejú i distal de l'fleum.

A continuació s'alliberen els extrems del budell prim trasplantat dels estomes que els uneixen a la paret abdominal i es regularitzen llurs vores. Fet això, es procedeix a col.locar aquest segment intestinal en continuïtat amb el tracte gastrointestinal mitjançant l'anastomosi intestinal tèrmino-terminal entre els extrems equivalents de donant i receptor.

El temps utilitzat per a l'extracció del budell prim en l'animal donant i el trasplantament heterotòpic és aproximadament d'uns 120-140 minuts, amb un temps d'isquèmia freda de 35-45 minuts. La interposició del budell en forma ortotòpica requereix uns 30-45 minuts de temps.





**FIGURA 29**

**Interposició ortotòpica: Aspecte del budell prim als 21 dies del trasplantament heterotòpic.**

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL

Mercè Hernández i González

ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010

## **NANSA DE THIRY-VELLA**

La exclusió intestinal del tipus anomenat en nansa de Thiry-Vella, segons la tècnica descrita per Markowitz<sup>14</sup>, procedeix d'una variant de l'anomenada fístula de Thiry, i consisteix en deixar un segment intestinal aïllat de la resta de budell i amb innervació i vascularització preservades, el qual es disposa en forma de U en deixar exterioritzats els extrems intestinals en forma d'estomes fixats a la paret intestinal.

Per a realitzar la derivació de Thiry-Vella, es procedeix a una laparotomia mitja i es mobilitza el budell prim de manera que s'exposen els vasos mesentèrics des dels primers centímetres del jejú fins a l'íleon. Es secciona el mesenteri de la porció corresponent a uns 8-12 cm del segment jejú-ileal, tot deixant intactes els vasos mesentèrics, i es secciona aquest segment intestinal prèvia lligadura amb seda 5/0 de les arcades intestinals relacionades amb la zona de secció.

Els extrems proximal i distal del segment intestinal aïllat es fixen a la paret abdominal en forma d'estomes. La continuïtat del budell prim remanent es restableix mitjançant l'anastomosi tèrmino-terminal dels seus extrems.

Als 21 dies, el budell exclòs es col·loca de nou en continuïtat amb el tracte gastrointestinal. A través d'una laparotomia mitja, s'allibera el segment de budell exclòs de les possibles adherències i es seccionen els extrems dels estomes. Es realitza una resecció de l'antiga anastomosi tèrmino-terminal del budell remanent i s'interposa el segment de budell en continuïtat, tot efectuant una anastomosi tèrmino-terminal en cadascun dels seus extrems.

### **3.2.1.7. Immunosupressió**

El tractament immunosupressor ha estat realitzat amb Ciclosporina A, la qual ha estat cedida generosament pels Laboratoris Sandoz Pharma en forma d'ampul·les de 5ml i amb una concentració de 50mg/ml (Sandimmun<sup>R</sup>).

Seguint les indicacions de diversos autors<sup>28,101</sup>, la Ciclosporina A ha estat administrada a dosi de 15mg/kg, per via intramuscular, a la zona glútea. Aquesta dosi s'ha administrat en una dilució de 1:5 en sèrum glucosat al 5%.

La pauta d'administració s'inicia les 24 hores prèvies al trasplantament en els animals del Grup C i es continua diàriament fins el dia 10. Posteriorment, s'administra la mateixa dosi a dies alterns i fins el dia del sacrifici. Es procura anar alternant les injeccions IM a ambdós costats de l'animal per disminuir els danys.

### **3.2.2. SEGUIMENT EVOLUTIU DELS ANIMALS**

Els detalls de la tècnica quirúrgica i l'evolució de cadascun dels animals han estat registrats en unes fitxes especialment dissenyades amb aquest fi.

#### **3.2.2.1. Control peroperatori**

En relació amb la tècnica quirúrgica, s'han anotat els temps operatoris utilitzats per a cada fase en general i, dins d'aquestes, els corresponents a la isquèmia freda i les anastomosis vasculares. També s'ha controlat el pes de la rata donant i el de la receptora. La longitud del budell trasplantat s'ha medid en la fase immediatament posterior al trasplantament i en la laparotomia prèvia al sacrifici. Tanmateix, s'han anotat les incidències tècniques durant l'extracció i trasplantament quant a hemorràgia a la sutura vascular i maniobres de control emprades, coloració del budell durant la reperfusió, necessitat o no de resecció de les vores intestinals, problemes relacionats amb l'anestèsia per inhalació i d'altres detalls que podrien influir sobre l'evolució posterior dels animals intervinguts.

### 3.2.2.2. Evolució clínica dels animals

En el seguiment clínic de les rates, s'han controlat els paràmetres següents:

- Pes diari
- Estat general quant a postura en repòs, resposta a l'estímul manual, pèl eriçat o normal, temperatura corporal i hemorràgia nasal o ocular.
- Palpació de masses intraabdominals
- Presència de deposicions i característiques de la femta.
- Estat dels estomes quant a coloració de la mucosa, tendència a l'estenosi, presència de secrecions i aspecte de les mateixes.

### 3.2.2.3. Morbiditat i mortalitat

La morbi-mortalitat dels animals ha estat diferenciada segons fos causada per fallades tècniques o per patologia relacionada amb el trasplantament intestinal i el tractament immunosupressor.

En els casos en què les alteracions han estat associades amb fallades relacionades amb la tècnica quirúrgica tals com trombosis venoses mesentèriques o hemorràgies, els animals han mort durant els primers dies del postoperatori i han estat substituïts per un altre animal.

També han estat substituïdes les rates que han presentat complicacions mortals relacionades amb la resposta immunològica al trasplantament, en aquest cas el rebuig. En aquests animals, els signes clínics que han presentat han requerit una relaparotomia per verificar la sospita clínica i, una vegada confirmada aquesta per l'aspecte macro i microscòpic del budell trasplantat, els animals han estat sacrificats per sobredosi anestèsica. Quan el procés no ha estat així, els animals han mort espontàniament i han requerit d'un examen *post mortem*.

La patologia induïda pel tractament immunosupressor es relaciona generalment amb problemes sèptics, els quals una vegada detectats, també han exclòs l'animal afectat de l'estudi.

En les rates en les quals la morbiditat detectada no influeix negativament sobre l'evolució del model experimental, se'n registra la incidència però no se les exclou de

**l'estudi.**

Els animals donants que han presentat una fallada tècnica mortal durant l'extracció no han estat comptabilitzats. De fet, aquest tipus de fallades es varen produir en poques ocasions, les quals es donaren sobretot en la fase inicial de l'experimentació.

#### **3.2.2.4. Variacions del pes**

Diàriament, els animals han estat pesats en una balança digital marca Sartorius. El pes s'ha anotat en la fitxa pròpia de cadascuna de les rates des del dia abans de la intervenció quirúrgica. Amb les dades recollides, s'han calculat les mitjanes de cada sèrie així com els percentatges de pèrdua o augment de pes respecte a l'inicial, i s'han realitzat les respectives corbes evolutives.

### **3.2.3. ESTUDI FUNCIONAL: PROVA D'ABSORCIO DE GLUCOSA I AIGUA**

#### **3.2.3.1. Tècnica experimental**

El test d'absorció de glucosa permet una monitorització parcial de la capacitat absorbent dels carbohidrats per part de la mucosa del budell prim trasplantat.

Aquesta prova s'ha realitzat segons la tècnica descrita per Schroeder<sup>160</sup> i utilitzada per altres autors<sup>101,161,163,164</sup>.

Per efectuar la prova és necessari haver preparat la solució a perfundir amb 0.23g de D (+)-Glucosa anhidra (Merck, referència 8337) diluïda en 500cc de sèrum fisiològic. La concentració teòrica de Glucosa calculada per aquesta solució és de  $2.55\mu\text{Mol/ml}$ . Per tal d'evitar errors, una vegada preparada la solució i prèviament a cada prova, es confirma el valor calculat mitjançant la determinació analítica d'una mostra, la qual es realitza amb un autoanalitzador Cobas-mira Roche, tot mostrant uns valors que oscil·len al voltant dels  $2.66\mu\text{Mol/ml}$ .

Amb l'animal anestesiats amb èter i mantingut amb dieta hídrica des d'almenys 6 hores abans de la prova, es procedeix a preparar l'estoma proximal o jejunostomia per tal d'insertar en ell un catèter de silicona de 1mm de diàmetre intern. L'estoma distal o ileostomia també es neteja de secrecions.

A continuació s'inicia la perfusió de la solució de glucosa de concentració coneguda mitjançant una bomba d'infusió del tipus Perfusor Secura (B.Braun), amb un dèbit de  $1.16\text{ml/min}$  ( $70\text{ml/hora}$ )<sup>101</sup> (FIGURA 30).

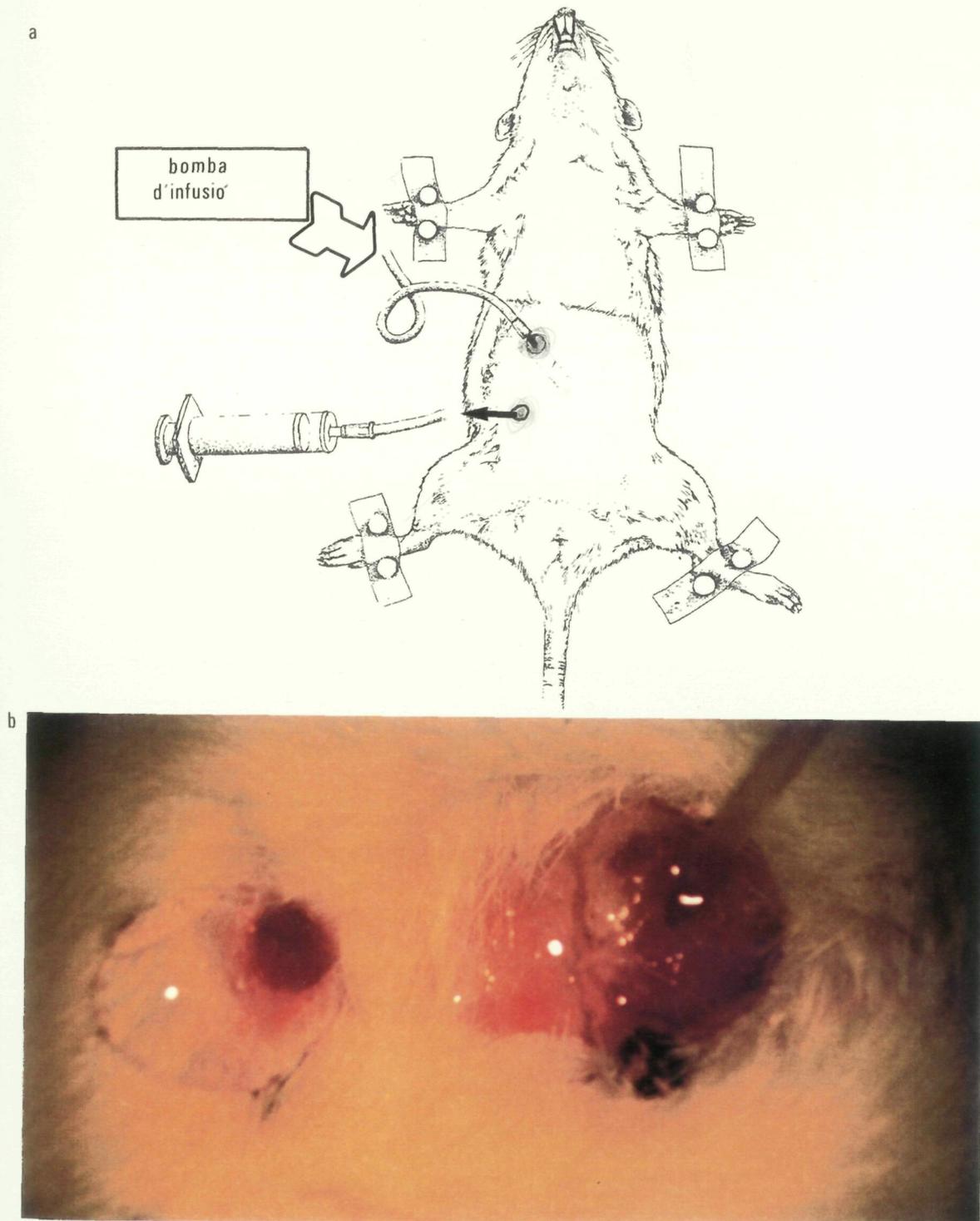
Per tal de conèixer el volum de solució infundida, es cronometra el temps des que s'inicia la perfusió fins al moment en que s'observa la sortida de la solució a través de la ileostomia. En aquest moment, s'interrumpeix la infusió i es tapa o clampa amb una pinça hemostàtica tova aquest estoma distal per tal d'esperar un període d'equilibri de 10 minuts.

Passat aquest temps, es recull amb una xeringa tot el líquid que va drenant pels estomes durant uns 3 minuts i es medeix el seu volum en mil·lilitres.

La solució així obtinguda es centrifuga a  $4^{\circ}\text{C}$ , a 2500 rpm, durant 10 minuts amb una centrífuga Kokusan model H-103 RS. D'aquesta manera s'eliminen materials que podrien influir en la lectura del resultat, els quals queden dipositats al fons del

tub. La solució clara del tub centrifugat es recull amb una pipeta de plàstic i es deposita en un tub de tipus eppendof, el qual es congela a  $-20^{\circ}\text{C}$ , fins el moment de la determinació analítica.

En els animals amb trasplantament ortotòpic, la tècnica per a la prova d'absorció de glucosa ha requerit modificacions personals. En aquest casos, en no existir estomes, cal abordar per laparotomia el budell trasplantat i localitzar els seus extrems. Fet això i, com que l'animal serà sacrificat posteriorment a aquesta prova, es poden seccionar els extrems del budell trasplantat i insertar en ells dos catèters, els quals es fixen amb una lligadura de seda 3/0. A través del catèter proximal es perfundeix la solució de glucosa seguint les mateixes indicacions que en el cas del budell col.locat heterotòpicament.



**FIGURA 30**

Prova d'absorció de glucosa i aigua en el trasplantament heterotòpic: a/ Dibuix representatiu del mètode. b/ Detall de la perfusió de la solució de glucosa a través de l'estómac proximal.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL

Mercè Hernández i González

ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010

### 3.2.3.2. Obtenció de resultats

Les determinacions de glucosa a les solucions inicial i final que s'obtenen mitjançant l'autoanalitzador Cobas-mira Roche, es realitzen segons un mètode enzimàtic ultraviolat basat en la Glucosa deshidrogenasa.

La mesura del volum de solució recollida i la determinació en aquesta de la concentració de glucosa permeten el càlcul de la quantitat de glucosa que ha estat absorvida o que roman a la llum intestinal. Aquest càlcul es basa en la diferència entre les quantitats inicial i final de glucosa i en relació als volums inicial i final de solució. D'aquesta manera també es coneix indirectament el volum d'absorció d'aigua. Cal tenir en compte que durant les maniobres d'oclusió i obertura de l'estoma distal es pot perdre una petita quantitat de solució.

La quantitat de glucosa absorvida s'expressa en relació a l'absorció d'aigua i a la superfície absorbent del budell, la qual es calcula a partir de dades morfomètriques tal com s'explicarà a l'apartat corresponent. Aquesta absorció de glucosa en relació al volum d'aigua, a la superfície absorbent i al temps s'expressa en la forma següent:

$$\mu\text{Mol} / \text{ml} / \text{cm}^2 / 10 \text{ minuts}$$

El temps de 10 minuts correspon al període durant el qual es manté la solució dins la llum intestinal. Aquest temps no es redueix a la unitat degut a què no es coneix si la velocitat d'absorció es manté constant.

### **3.2.4. ESTUDI MICROMORFOLÒGIC**

Per tal de realitzar l'estudi micromorfològic s'han obtingut mostres del budell prim a diversos intervals de temps després del trasplantament intestinal i de l'exclusió en nansa de Thiry-Vella del grup control. La valoració histològica de les mostres s'ha realitzat amb dos procediments:

- **Estudi al Microscopi Òptic:** amb el qual s'ha valorat la micromorfologia de les estructures de la mucosa intestinal i s'han realitzat determinacions morfomètriques
- **Estudi al Microscopi Electrònic de Transmissió:** amb el qual s'ha observat la ultraestructura dels enteròcits del budell trasplantant ortotòpicament en comparació amb mostres de budell normal.

#### **3.2.4.1. Processament de les mostres per Microscopia òptica**

Les mostres del budell han estat obtingudes mitjançant una laparotomia als diferents períodes postoperatoris establerts: 10 minuts, 7, 14, 21 i 40 dies.

Les mostres procedeixen de la porció distal o ileal del budell exclòs o trasplantat, i abasten seccions transversals completes. Una vegada obtingudes, han estat rentades suaument amb sèrum fisiològic per tal de retirar restes de secrecions intraluminals, i s'han tallat en un tamany adequat pel procés de fixació.

Per a la fixació del teixit intestinal s'ha utilitzat formol al 4% amb el qual s'augmenta la duresa de la paret intestinal i es facilita el seu processament posterior. Submergides en aquest fixador, les mostres han estat conservades durant un període de 2 a 4 dies.

A continuació, per a poder obtenir talls suficientment fins del teixit per a l'observació microscòpica, les mostres s'han inclòs en parafina (Polywax<sup>R</sup> Difco, referència 8829-18) i se n'han realitzat blocs. Degut a que la parafina, com la majoria de materials d'inclusió, no és soluble en aigua, es necessari deshidratar la mostra prèviament a l'inclusió, tot submergint-la en banys succesius de solucions aquoses progressivament creixents d'alcools. Els blocs de parafina permeten conservar la mostra de forma indefinida i fan de suport durant la secció.

Tot seccionant la mostra inclosa en el bloc amb la fulla d'acer del microtom minot marca Reichert-Jung, model 2030, s'obtenen talls de 7 micres de gruix. Els talls en parafina, es monten en portaobjectes on queden adherits amb gelatina d'or en dilució aquosa (gelatina d'or Panreac<sup>R</sup> ref. 251336). A continuació, es disposen en cistelles de vidre i es desequen dins l'estufa a 40°C.

Posteriorment es realitza la tinció dels components tisulars amb la tècnica d'Hematoxilina/Eosina. Els diversos passos del procés de tinció es detallen en la TAULA 11. Com que aquests colorants s'utilitzen en solució aquosa, cal desparafinar prèviament els talls per immersió en Xilol. Aquest agent aclarant també s'ha d'extreure i per fer-ho, es banyen els portaobjectes en solucions d'alcohol decreixents, tot començant per alcohol absolut i continuant amb alcohol de 96° i de 70° i fins arribar a un medi aquós d'aigua destil.lada.

Arribats aquí, es procedeix al pas pel colorant preparat a base d'Hematoxilina de Harris (Papanicolaou 1a) Zytologie<sup>R</sup> Merck, referència 9253) durant 8 minuts. Per obtenir un millor contrast entre les estructures, cal rentar l'hematoxilina sobrant amb aigua corrent i una submersió ràpida en alcohol clorhídric al 1% (alcohol 70° amb un 0.25% d'àcid clorhídric).

A continuació es realitzen varis banys succesius en aigües destil.lada i corrent i, seguidament, es submergeixen en una dilució preparada a base del colorant vermell sòlid Eosina (Certistain<sup>R</sup> Merck, referència 15939) durant 24 segons.

Els talls tenyits es renten amb aigua corrent i posteriorment passen per solucions ara creixents d'alcohol per a finalitzar en banys de xilol.

Després de la tinció, els talls al portaobjectes es cobreixen amb cubreobjectes tot utilitzant l'agent de montatge DPX<sup>R</sup> (BDH Laboratory Supplies, referència 36029).

### **DESPARAFINACIO**

1. XILOL I → 5 minuts
2. XILOL II → 5 minuts
3. XILOL III → 5 minuts

### **HIDRATACIO**

4. ALCOOL ABSOLUT I → 3 minuts
5. ALCOOL ABSOLUT II → 3 minuts
6. ALCOOL 96° → 3 minuts
7. ALCOOL 70° → 3 minuts
8. AIGUA DESTIL.LADA → 5 minuts

### **TINCIO**

9. HEMATOXILINA DE HARRIS → 8 minuts
10. AIGUA CORRENT → temps indefinit
11. ALCOOL CLORHIDRIC → 1 segon
12. AIGUA CORRENT → temps indefinit
13. AIGUA DESTIL.LADA → 5 minuts
14. AIGUA DESTIL.LADA AMONIACADA 4% → 1 segon
15. AIGUA CORRENT → temps indefinit
16. AIGUA DESTIL.LADA → temps indefinit
17. EOSINA → 24 segons
18. AIGUA CORRENT → temps indefinit

### **DESHIDRATACIO**

19. ALCOOL 96° I → 3 minuts
20. ALCOOL 96° II → 3 minuts
21. ALCOOL ABSOLUT I → 3 minuts
22. ALCOOL ABSOLUT II → 3 minuts
23. XILOL EUCALIPTOL → 30 segons
24. XILOL I → 3 minuts
25. XILOL II → 3 minuts
26. XILOL III → 3 minuts

**TAULA 11: TINCIO D'HEMATOXILINA/EOSINA**

### 3.2.4.2. Processament de les mostres per microscopia electrònica de transmissió

El processament de les mostres per l'observació amb la Microscopia Electrònica de Transmissió requereix tècniques més sofisticades que les emprades per a la Microscopia òptica convencional. Els procediments utilitzats en aquest treball han estat basats en els descrits per diferents autors<sup>293,294,295,296</sup>.

Degut a que els fixadors com el formol produeixen una precipitació de les proteïnes tisulars amb la consegüent desnaturalització de la matèria orgànica, per l'estudi ultraestructural al microscopi electrònic cal utilitzar com a fixador Glutaraldehyd en solució al 2% en tampó fosfat a pH neutre (7.4).

Una vegada obtingudes les mostres de la porció distal del budell trasplantat de forma ortotòpica, es tallen en un tamany adequat per la fixació i es col·loquen submergides en la solució de Glutaraldehyd durant 2 hores a la nevera a 4°C.

Passat aquest temps, es retira el fixador i es submergeixen en una solució de tampó fosfat 0.1M durant 30 minuts, després dels quals es renova la solució i les mostres poden quedar conservades a la nevera durant un període màxim de 15 dies.

Per a obtenir els talls del teixit per a l'observació amb el microscopi Electrònic de Transmissió, la inclusió s'ha de fer dins un material dur, plàstic, homogeni i estable al feix d'electrons. En aquest cas, la inclusió s'ha realitzat en resines epoxi (poliaril eters de glicerol), tot utilitzant la del tipus Spurr.

Aquest tipus d'inclusió precisa d'una post-fixació, la qual es realitza per immersió en Tetraoxid d'Osmi en solució al 1% en tampó fosfat, tot preservant el recipient de la llum amb un envolcall de paper d'alumini i dipositant-lo a la nevera entre 2 i 4°C., durant 2 hores. La baixa temperatura utilitzada per a la fixació evita l'extracció dels components tisulars i l'autòlisi.

Passat aquest temps, s'aspira tota la solució d'Osmi i es renta la mostra mitjançant 3 banys de 15 minuts cadascun dins una solució de tampó fosfat. Lliure la mostra dels restes d'Osmi, s'inicia el procés de deshidratació per immersions succesives de 15 minuts cadascuna dins d'alcools en solució aquosa creixent de 30°, 50°, 70°, 90° i 96°, tot essent el darrer bany de 60 minuts dins d'alcohol absolut, el qual s'ha de renovar cada 15 minuts. La deshidratació finalitza amb una darrera

immersió en acetona pura en 4 passos de 15 minuts cadascun.

A continuació, comença la inclusió en la resina epoxi Spurr. La mescla per a la inclusió es compon, a més de la resina, d'agents enduridors, acceleradors i plastificadors. La preparació del medi d'inclusió s'ha de fer en recipients de plàstic, sota una campana extractora i tot utilitzant guants degut al risc tòxic de les resines per via inhalatòria i cutània. La proporció dels components en la mescla és la següent:

<b>ERL 4206</b> (resina epoxi)	10.0 g
<b>DER 736</b> (flexibilitzant)	6.0 g
<b>NSA</b> (enduridor)	26.0 g
<b>DMAE S-1</b> (accelerador)	0.4 g

Aquests components es barregen amb un agitador magnètic fins que s'observa l'homogeneïtzació del preparat.

La inclusió es realitza per immersió en solucions creixents de la mescla en acetona segons les proporcions i temps que s'indiquen a continuació:

DILUCIO RESINA : ACETONA (100%)			TEMPS	
1	:	3	...	2 hores (T <sup>a</sup> ambient)
2	:	2	...	2 hores "
3	:	1	...	2-4 hores*
3	:	0	...	2-5 hores*
3	:	0	...	8 hores*
3	:	0	...	3 hores*

(\*) les 2 primeres hores a T<sup>a</sup> ambient, la resta dins la nevera a 2°C.

Per a millorar la penetració de la mescla de resina a totes les zones de la mostra, cal mantenir els recipients que les contenen sobre un agitador rotatori durant tota aquesta fase del procés.

Finalitzada la inclusió, es procedeix a la realització de blocs de resina, tot utilitzant la mateixa en la qual es troben submergides les mostres. En els motlles de goma cal depositar les mostres, tot tenint cura de que l'orientació sigui la més

adequada per a la superfície de tall. Aquesta disposició dins el motlle es facilita amb l'ús d'un microscopi estereoscòpic.

Les mostres dins els motlles es colliquen a l'estufa a 60°C., durant 48 hores per tal que la resina polimeritzi. Transcorregut aquest temps, els blocs ara endurits poden ser extrets del motlle i procedir a l'obtenció de talls.

Per a l'estudi de les mostres amb el Microscopi Electrònic de Transmissió es necessari un procés de tallat doble. Inicialment, es realitza una piramidació de l'extrem que conté la mostra i posteriorment s'obtenen talls de 0.7 a 1 micra de gruix (semifins) amb la ganiveta de vidre de l'ultramicrotom (Ultracut Reicher-Jung). Aquests talls semifins es colliquen sobre un portaobjectes convencional i es tenyeixen amb blau de metilè. A partir de l'observació amb el microscopi òptic del tall semifí del teixit tenyit de blau es decideix quina zona serà la més adient a l'estudi ultraestructural.

Escollida una determinada zona en la mostra, es procedeix al repiramidat del bloc, sempre controlant el procés a través d'una lent d'augment, de manera que aquesta zona quedi al centre de la superfície de tall. Fet això, es procedeix a l'obtenció de talls de 0.05 micres anomenats ultrafins. Els talls ultrafins s'aconsegueixen per secció del bloc amb el mateix ultramicrotom, però tot utilitzant una ganiveta de diamant.

Els talls ultrafins es dipositen sobre reixetes rodones de coure i es guarden dins de càpsules de Petri a temperatura ambient fins el moment de l'observació.

Per a observar les mostres amb el microscopi electrònic de transmissió, cal efectuar un contrastat dels talls per immersió de les reixetes en Acetat d'Uranil durant 30 minuts i Citrat de plom durant 7 minuts. Prèviament, entremig i després del bany en aquestes substàncies, els talls a les reixetes s'han de rentar per goteig amb aigua bidestil·lada estèril per tal d'evitar la formació de cristalls que artefactarien el preparat. Els talls contrastats poden guardar-se indefinidament dins de càpsules de Petri.

### 3.2.4.3. Estudi morfològic al microscopi òptic

L'avaluació morfològica de les mostres processades per a la microscopia òptica s'ha realitzat amb un microscopi marca Leica, model LEITZ DM RB.

Basats en els mètodes d'estudi utilitzats per Pritchard i Sonnino<sup>101,297</sup>, els detalls morfològics de la paret intestinal s'han registrat en unes fitxes dissenyades a tal fi, amb les quals es possible establir uns graus, puntuacions o *scores* numèrics segons les alteracions presents al teixit (FIGURA 31). Aquest tipus d'avaluació resumeix en un valor numèric l'estat morfològic del budell, la qual cosa facilita la realització de comparacions entre els detalls observats en les diferents sèries i grups, així com la relació d'aquestes dades amb aspectes no microscòpics tals com els signes clínics i les determinacions funcionals.

L'estudi morfològic abasta l'observació de 5 estructures situades a diferents nivells de la paret del budell prim:

≈ **Velositats:** En elles es valora la seva apariència general i en relació a l'estat de l'epiteli, el teixit connectiu i les glàndules.

≈ **Criptes:** S'observa el seu aspecte general conservat o no i els indicis de regeneració tisular tals com la presència de mitosis cel·lulars.

≈ **Làmina pròpia:** Es considera la seva integritat i organització, així com l'observació d'elements aliens tals com infiltrat cel·lular, edemes i hemorràgia.

≈ **Muscularis mucosae:** En aquesta capa també es valoren el seu estat general i l'alteració provocada sobre d'altres estructures que l'atravessen.

≈ **Presència de Bacteries:** Considerant l'observació d'aquests elements com signe d'alteració de la barrera mucosa intestinal.

Per establir la puntuació o *score* corresponent a cada mostra, s'examinen 10 camps de microscopi sota un mateix augment, el qual s'incrementa o es redueix segons l'estructura a observar. D'aquesta manera, s'utilitza un augment de 4x (x12.5x) per valorar la morfologia general de les velositats i les criptes; un augment de 40x (x12.5x) per observar les característiques de l'epiteli i la presència d'infiltrat cel·lular, i els augments de 60 i 100x per examinar la làmina basal i detectar la presència de mitosi a la zona corresponent a les criptes.

Les alteracions es registren segons el nombre de camps en que s'observen. Si una alteració està present en 10 dels 10 camps examinats, se li assigna el valor 1. En canvi, si només es detecta en, per exemple, 2 de 10 camps, li correspon el valor 0.2. Aquest tipus de valoració aporta més informació que l'assignació d'unitats senceres i constitueix una variant al mètode de Pritchard i Sonnino.

La detecció d'alguna de les alteracions assenyalades es marca o subraya a la fitxa morfològica, tal com es mostra a la FIGURA 31. A la normalitat correspon un valor d'escore igual a 0. Un escore elevat es relaciona amb uns danys morfològics importants.

Aquest sistema numéric facilita un anàlisi detallat i protocolitzat al microscopi òptic i, a més a més, permet la selecció d'aspectes específics de la mostra que poden valorar-se de forma ultraestructural amb la Microscopia Electrònica de Transmissió.

<b><u>DADES MORFOLOGIQUES</u></b>		
<b>SERIE.....</b>		
<b><u>VELLOSITATS:</u></b>		
<b>ASPECTE</b>	presents normals	ausents
	anormals:	allargades curtes estretes amples
---		
<b>EPITELI</b>	normal	
	anormal:	pèrdua cel.lular parcial denudació completa edema
<b>TEIXIT CONECTIU</b>		
	normal	
	anormal:	edema estasi vascular infiltrat extravascular
<b>LIMFÀTICS</b>		
	presents normals	ausents
	anormals:	dilatats ocluits
<b><u>CRIPTES:</u></b>		
	presents normals	ausents
	anormals:	degeneració cel.lular desorganització
	regeneració:	present                  ausent
<b><u>LAMINA PROPIA:</u></b>		
	present normal	ausent
	anormal:	edema infiltrat mononuclear infiltrat polimorfonuclear estasi vascular hemorràgia
<b><u>MUSCULARIS MUCOSAE:</u></b>		
	present normal	ausent
	anormal:	estasi vascular hemorràgia
<b><u>BACTERIES:</u></b>		
	presents	ausents
<b><u>SCORE</u> .....</b>		

**FIGURA 31: FITXA PER A L'OBTENCIÓ DEL GRAU D'AFECTACIÓ MORFOLÒGICA DE LA PARET INTESTINAL**

#### 3.2.4.4. Determinacions morfològiques

Els talls transversals de budell prim processats per a la microscopia òptica també han estat examinats amb un equip d'Anàlisi d'Imatges marca Leica, model Quantimet 500+. Amb aquest equip, les imatges obtingudes amb el microscopi òptic són captades per una càmera a color incorporada al capçal i processades per digitalització a través del programa informàtic, el qual treballa amb el sistema Windows. Les imatges digitalitzades s'observen en el monitor, sobre el qual es treballa tot assenyalant les zones a mesurar amb el cursor. Tanmateix, el sistema permet la quantificació i classificació d'estructures segons la seva forma.

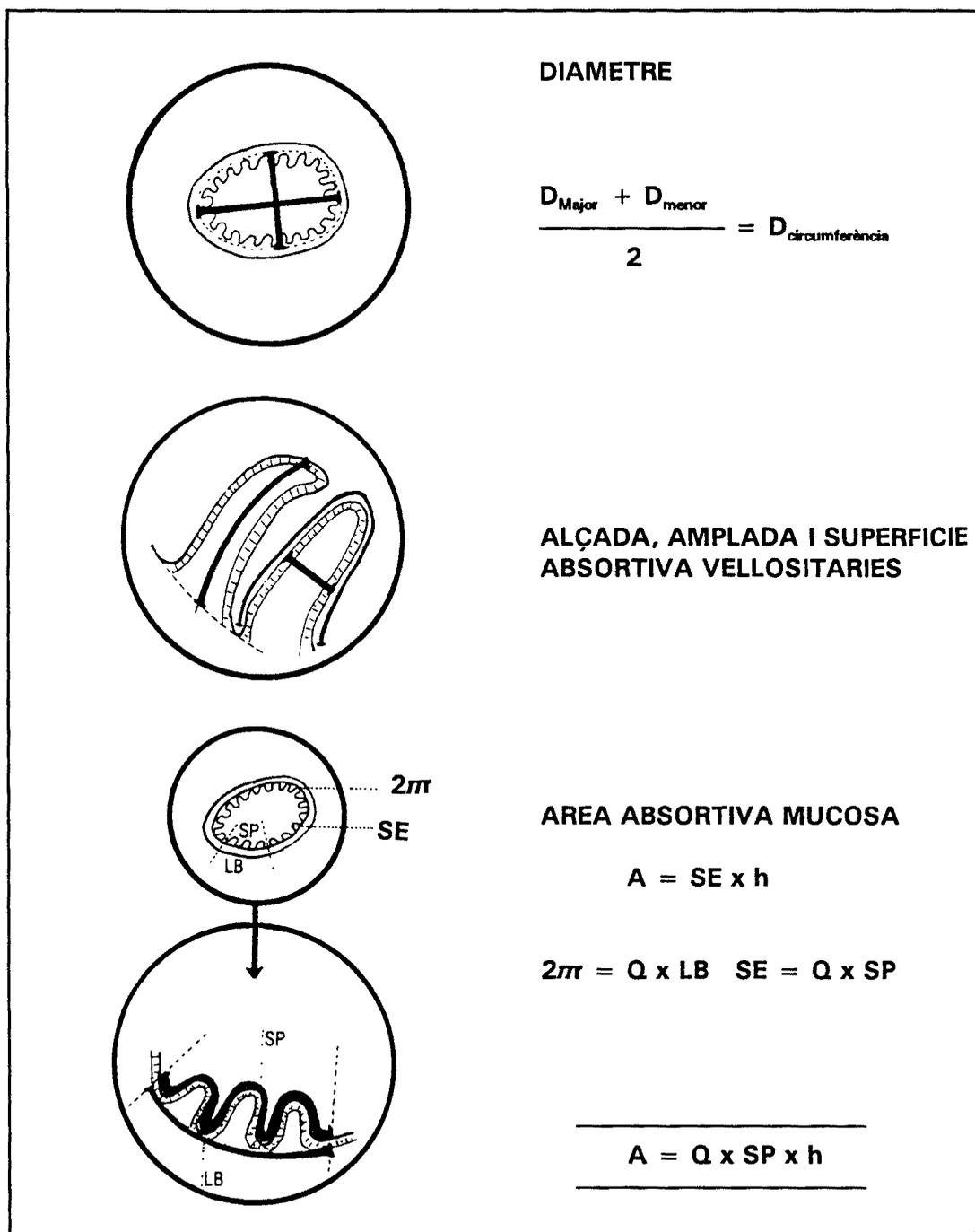
El programa de treball permet mesurar les estructures automàticament, segons la distància en línia recta entre dos punts marcats, o bé amb l'opció de treball interactiu, tot reseguint el contorn d'una estructura determinada.

En els talls transversals de budell prim procedents de cadascuna de les sèries s'han realitzat les mesures dels paràmetres següents (FIGURA 32):

- **Diàmetre:** Aquesta determinació s'ha realitzat segons la mesura de la distància entre dos punts, els quals han estat situats a la base de les vellositats. Degut a que, en general, la forma del budell prim es presenta al tall transversal en forma el·líptica, s'han mesurat els diàmetres major i menor d'aquesta elipse i s'han transformat en un de sol, el qual seria el que mostraria el budell si estigués en forma de circumferència.

Les mesures han estat realitzades en 10 talls de budell per a cada mostra i sota un augment de 4x. S'ha registrat el valor mig amb la corresponent desviació estandar i s'ha expressat en micres.

- **Alçada de les vellositats:** La mida s'ha realitzat tal com es mostra a la FIGURA 32, tot prenent com a base una línia imaginària que travessaria pel fons de les criptes<sup>160,164</sup>. El valor registrat procedeix de les mesures de la distància entre dos punts determinades en 10 camps de microscopi a 40x d'augment. En cas de trobar vellositats amb l'eix inclinat, la determinació s'obté a partir de la suma de les diverses porcions rectes que formarien aquest eix.



**FIGURA 32: DETERMINACIONS MORFOMETRIQUES I CALCUL DE LA SUPERFÍCIE INTESTINAL ABSORTIVA**

– **Amplada de les vellositats:** Aquesta determinació es realitza a la zona del que es considera el punt mig de l'alçada i segueix el mateix protocol que per a la mesura anterior.

– **Superfície absortiva per vellositat:** Es medeix tot reseguint el contorn de cada vellositat.

– **Area absortiva mucosa:** S'obté a partir de càlculs geomètrics on s'utilitzen valors procedents de les altres determinacions morfomètriques.

Tal com pot observar-se a la FIGURA 32, el tamany de l'area o superfície epitelial absortiva es determina amb el modus de treball interactiu, tot medint la longitud que mostra el reseguint de la vora intraluminal del tall (SE). Degut a la dificultat que suposa l'obtenció de talls de budell prim que abastin a totes les vellositats en la seva forma característica, la longitud de la superfície intraluminal s'ha mesurat en la zona en la qual la morfologia epitelial es mostra més íntegra. Aquest valor ha estat anomenat Superfície Parcial o SP. D'aquesta zona s'ha mesurat també la longitud de la base (LB) per tal de poguer determinar quina porció de la longitud total de la circumferència s'està examinant.

El càlcul del tamany de l'area absortiva mucosa total (A) al qual s'havia fet referència en l'apartat corresponent a la prova d'absorció de glucosa, es realitza a través de la fórmula geomètrica:

$$A = SE \times h$$

on **SE** correspon a la longitud de la base del budell considerat com a figura geomètrica amb forma de cilindre rugós, i **h** seria l'alçada d'aquesta figura, la qual vindria donada per la mesura de la longitud del segment intestinal en el moment del sacrifici.

Per a obtenir el valor **SE**, cal coneixer a quina porció d'aquest valor correspon la mida realitzada amb el morfòmetre, a la qual hem anomenat **SP** o superfície parcial. Tot utilitzant pel càlcul la determinació de la longitud de la zona mesurada a nivell de la base (**LB**), es calcula a quina porció de la longitud total de la

circumferència correspon aquest valor. Aixó seria el mateix que calcular quantes vegades estaria contingut aquest valor dins la longitud total de la circumferència, a quin coneixement s'arriba a partir del quocient:

$$Q = \frac{2 \pi r}{LB}$$

D'aquesta manera, si la longitud de la circumferència ( $2\pi r$ ) és igual a  $Q$  vegades el valor de la longitud de la base on ha estat realitzada la mesura ( $LB$ ), per a obtenir el valor de la superfície epitelial total  $SE$  caldrà també multiplicar per  $Q$  el valor obtingut a partir de la mida de la superfície epitelial parcial. Així:

$$\text{si: } 2\pi r = Q \times LB \quad \text{implica que} \quad SE = Q \times SP$$

i a partir d'aquest valor es podrà obtenir el valor de l'Àrea epitelial absorbiva  $A$  amb la fórmula:

$$A = Q \times SP \times h$$

L'àrea de la mucosa intraluminal teòricament absorbiva s'expressa en  $\text{cm}^2$ .

### 3.2.4.5. Estudi morfològic al microscopi electrònic de transmissió

Les mostres de budell prim en forma de talls ultrafins han estat observades amb un microscopi electrònic de transmissió Carl Zeiss, model EM 10 CR. L'estudi s'ha centrat en les cèl.lules absortives o enteròcits en les quals han estat valorades les característiques morfològiques generals i a nivell de zones fonamentals per a la funció cel.lular:

- Vora en raspall i xarxa terminal
- Reticle endoplasmàtic
- Mitocòndries
- Membrana baso-lateral i espai intercel.lular
- **Vora en raspall i xarxa terminal:** l'estudi dels microvillis inclou l'observació de llur morfologia preservada o no, l'aspecte de la membrana i del citoesquelet. No ha estat valorada a efectes de resultats la presència dels filaments que constitueixen el glicocàlix degut a que la tècnica utilitzada per a la fixació no és la més apropiada per la cura que requereix aquesta delicada estructura.

A més d'observar el citoesquelet dels microvillis, també s'ha intentat observar la disposició i aspecte d'aquests microfilaments a nivell de la xarxa terminal.

- **Reticle endoplasmàtic:** S'han observat les proporcions del reticle endoplasmàtic llis i del rugós, la morfologia del seu sistema de túbuls i cisternes i la presència i aspecte de les mitocòndries als seus voltants.
- **Mitocòndries:** En elles s'ha observat el número, tamany i estat de la seva membrana.
- **Membrana baso-lateral i espai intercel.lular:** S'han estudiat les dimensions de l'espai intercel.lular i l'aspecte de les interdigitacions de les membranes cel.lulars.

A la zona intercel.lular proximal, ha estat valorat l'aspecte dels complexes d'unió a nivell de la *zona ocludens* i dels desmosomes.

Les característiques de les estructures observades en les mostres de budell prim iso i alotrasplantat ortotòpicament, han estat comparades entre sí i en relació a mostres de budell prim normal procedents de segments intestinals equivalents.

### 3.2.5. PROCESSAMENT ESTADÍSTIC

Els valors de les determinacions realitzades en cadascuna de sèries han estat emmagatzemats en una base de dades del programa informàtic D-Base III Plus. El processament estadístic d'aquestes dades s'ha realitzat amb el programa SPSS/PC+.

Els resultats obtinguts s'han agrupat en tres categories o grups segons provingessin de l'estudi morfològic, del morfomètric o de la determinació d'absorció de glucosa. Les dades obtingudes a partir dels diferents estudis han estat totes elles variables de caràcter quantitatiu continu, bé per tractar-se de valors procedents de mesures numèriques o bé, en el cas de les determinacions morfològiques, per haver estat aquestes quantificades en forma de *score* o puntuació. Una vegada avaluades, aquestes dades han estat contrastades amb les observacions de la ultraestructura cel·lular aportades per la microscopia electrònica de transmissió.

Al tractar-se de mostres provinents de grups independents i amb un tamany petit ( $n \leq 30$ ), per a comparar les mitjanes dels valors de cada variable entre els diferents grups i sèries s'ha utilitzat l'Anàlisi de Variància<sup>298</sup>, tot aplicant el procediment ONEWAY del sistema SPSS/PC+.

Aquest procediment estadístic parteix de l'obtenció precisa del nombre de casos a cada grup ( $n$ ), la mitjana ( $x$ ), la desviació típica o estàndard ( $sd$ ) i els graus de llibertat ( $gl = n-1$ ).

L'aplicació de l'anàlisi de variància requereix com a condició que les variables estudiades segueixin, a la població d'origen, una distribució *normal* i amb igualtat de variàncies.

Per a la comprovació del supòsit de normalitat s'ha utilitzat la prova de Kolmogorov-Smirnov, la qual compara la distribució muestral de les mitjanes amb la que hauria de seguir segons la llei de Student Fisher, en tractar-se de mostres petites ( $n = 5$ ).

Per a totes les proves s'ha establert el límit de confiança en el 95%, es a dir, que les diferències observades han estat significatives quan la  $p$  ha estat menor o igual a 0.05. D'aquesta manera, la hipòtesi nula s'ha identificat amb la igualtat de

mitjanes o de variàncies ( $p \geq 0.05$ ) i la hipòtesi alternativa amb la desigualtat o diferència ( $p \leq 0.05$ ).

També cal comprovar l'homogeneïtat de les dades dins de cada sèrie per tal d'establir la seva pertinença a una mateixa població. Amb l'aplicació del test d'homogeneïtat es considera que la mostra és homogènia quan la  $p$  és major o igual a 0.05, donat que a partir d'aquest valor no existeixen diferències significatives entre les dades.

La vulneració del suposat de normalitat no afecta excessivament el grau  $p$  de significació<sup>298,299,300</sup>. Tanmateix, la manca d'homogeneïtat de les variàncies només afecta en forma important el valor  $p$  quan els grups són de diferent tamany.

Per a observar la influència del tipus de tècnica en cada parametre, l'anàlisi de variància ha estat efectuada entre les variables de cadascuna de les sèries a igual interval de temps. Per a observar l'efecte del factor temps sobre els paràmetres observats, s'han comparat les sèries dins de cada grup en relació als diferents intervals de temps.

L'anàlisi de variància mostra la presència de diferències significatives entre les mitjanes de les sèries comparades però no especifica entre quines dues sèries s'estableix la diferència. Per a conèixer on es troba la desigualtat de les mitjanes, cal realitzar proves de contrast. En el present treball s'ha realitzat la prova de Scheffé, amb la qual s'han evidenciat les parelles de sèries amb diferències significatives a un valor de  $p \leq 0.05$ .

Per tal de valorar si existeix relació entre els paràmetres morfològics, morfomètrics i funcionals, s'han realitzat anàlisis de correlació i regressió. En aquest proces estadístic s'ha utilitzat el procediment REGRESSION del sistema SPSS.



## **4. RESULTATS**



## 4. RESULTATS

### 4.1. ASPECTES TECNICS

Els temps mitjans utilitzats per a la realització de les diferents fases que componen el trasplantament intestinal es detallen a la taula següent:

FASE DEL TRASPLANTAMENT	TEMPS MITJA	TEMPS MAXIM	TEMPS MINIM
Extracció animal donant	77 minuts	110 minuts	60 minuts
Trasplantament animal receptor	60 minuts	75 minuts	50 minuts
Temps d'anastomosi vascular	38 minuts	45 minuts	28 minuts
Temps d'isquèmia freda	48 minuts	56 minuts	40 minuts

TAULA 12

En relació a la llargada del segment de budell trasplantat, aquesta ha estat en mitjana de 13.00 cm per al grup de control amb nansa de Thiry Vella (Grup A), de 11.33 cm per al grup d'animals amb isotrasplantament intestinal (Grup B), i de 10.66 cm per al grup amb alotrasplantament (Grup C).

En 12 casos, ha estat necessari practicar una resecció dels extrems proximal o distal del segment intestinal, degut a l'observació macroscòpica de signes d'isquèmia a la paret intestinal d'aquestes zones o a la presència d'alteracions tals com hematomes o lesions sobre els vasos mesentèrics.

### 4.2. MORBIDITAT I MORTALITAT

Descriurem separatament la morbiditat i mortalitat degudes principalment a problemes tècnics i la morbiditat i mortalitat provocades pel model experimental utilitzat. Els problemes tècnics s'han donat majoritàriament en els períodes inicials o d'aprenentatge de l'experiment. La morbi-mortalitat provocada pel model experimental utilitzat ha estat, fonamentalment, en relació a problemes d'origen immunològic.

#### 4.2.1. MORBIDITAT I MORTALITAT DEGUDES A LA TECNICA

L'estudi comprén un total de 30 trasplantaments i 15 derivacions de Thiry-Vella. Per tal d'arribar a obtenir 5 animals vàlids per a cadascuna de les sèries, ha calgut realitzar 41 trasplantaments i 16 derivacions de Thiry-Vella, la qual cosa significa un total de 98 animals intervinguts, tot incloent les rates donants i les receptores. No han estat comptabilitzades les rates donadores en les quals els errors tècnics han impedit l'extracció correcta del segment intestinal, si bé aquest fet s'ha produït en escasses ocasions, una vegada superada la fase d'aprenentatge.

En la TAULA 13, es detallen les causes de morbiditat i mortalitat d'origen tècnic per grups i sèries.

GRUP	SERIE	MORTALITAT	MORBIDITAT
A	Aa	0	0
	Ab	0	1 prolapse estoma
	Ac	1 anestèsia 2ªintervenció	0
B	Ba	0	0
	Bb	2 trombosi venosa	1 tancament estoma prox.
	Bc	1 oclusió intestinal	1 prolapse estoma
C	Ca	1 paràlisi extremitats inf.	0
	Cb	1 trombosi venosa	0
	Cc	1 isquemia arterial 1 dehiscència sutura	1 prolapse estoma
<b>TOTAL</b>	<b>57 animals</b>	<b>8 morts (14%)</b>	<b>4 complicacions (7.01%)</b>

**TAULA 13**

En la sèrie Ca, la paràlisi d'extremitats inferiors observada en el postoperatori del trasplantament va decidir el sacrifici de l'animal, si bé creiem que l'evolució espontània d'aquesta complicació tècnica també li hauria provocat la mort.

La mortalitat i morbiditat de causa tècnica per grups serien les següents:

GRUP	MORTALITAT	MORBIDITAT
A (n=16)	1 cas (6.25%)	1 cas (6.25%)
B (n=18)	3 casos (16.66%)	2 casos (11.11%)
C (n=23)	4 casos (17.39%)	1 cas (4.34%)

TAULA 14

Les causes tècniques que han provocat la mort poden ser agrupades de la forma següent:

CAUSA TECNICA	nº casos	% mortalitat
Sobredosi anestèsia	1	1.75%
Trombosi venosa mesentèrica	3	5.26%
Isquèmia arterial	1	1.75%
Dehiscència anastomosi intestinal	1	1.75%
Paràlisi extremitats inferiors	1	1.75%
Oclusió anastomosi intestinal	1	1.75%

TAULA 15

Quant a les causes tècniques de morbiditat, la freqüència ha estat la següent:

CAUSA TECNICA	nº casos	% morbiditat
Prolapse estoma cutani	3	5.26%
Tancament estoma	1	1.75%

TAULA 16

Com es pot observar a la TAULA 15, les complicacions relacionades amb l'anastomosi vascular han estat en conjunt la principal causa de mortalitat, de manera que, tot exclouent els 16 animals del grup control per tal de valorar només els 41 animals trasplantats, les complicacions vasculares han representat el 9.75% de mortalitat, front al 2.43% que correspondria a les altres causes de mortalitat dins d'aquest grup d'animals trasplantats.

En relació a la morbiditat de causa tècnica (TAULA 16), les complicacions han estat escasses i lleus (7.01%) i, a diferència del que posteriorment observarem per a les complicacions pròpies del model experimental, l'evolució espontània d'aquestes complicacions no hauria provocat la mort dels animals.

#### 4.2.2. MORBIDITAT I MORTALITAT PROPIES DEL MODEL EXPERIMENTAL

En la TAULA 17, es detallen les causes de morbiditat i mortalitat pròpies del model experimental.

GRUP	SERIE	MORTALITAT	MORBIDITAT
A	Aa	0	0
	Ab	0	0
	Ac	0	0
B	Ba	0	0
	Bb	0	0
	Bc	0	0
C	Ca	1 rebuig	1 pneumonia
	Cb	1 rebuig 1 sèpsia	2 pneumonies
	Cc	1 peritonitis per dehiscència anastomòtica	0
<b>TOTAL</b>	57 animals	4 morts (7.01%)	3 complicacions (5.26%)

TAULA 17

Com pot observar-se, la morbimortalitat pròpia del model experimental ha estat originada per alteracions relacionades amb la resposta immunològica del rebuig i al tractament immunosupressor (FIGURES 33 i 34).





**FIGURA 33: COMPLICACIONS SEPTIQUES: ABCESSOS RENALS**



**FIGURA 34: REBUIG AL BUDELL TRASPLANTAT**

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL

Mercè Hernández i González

ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010

Per grups, la mortalitat i morbiditat pròpies del model experimental es detallen a la taula següent:

GRUP	MORTALITAT	MORBIDITAT
A (n = 16)	0	0
B (n = 18)	0	0
C (n = 23)	4 casos (17.39%)	3 casos (13.04%)

TAULA 18

El grup C o d'alotrasplantament ha estat el grup principal a l'hora de les complicacions pròpies del model experimental. Les freqüències de cadascuna d'aquestes complicacions ha estat la següent:

COMPLICACIO	nº casos	% mortalitat
Resposta immunològica de rebuig	2	3,5%
Peritonitis per fallada anastomòtica	1	1.75%
Sèpsia amb pneumonia i abscessos renals	1	1.75%

TAULA 19

En relació a la morbiditat, la única complicació observada ha estat la pneumonia amb un 5.26% del total d'animals. Tot considerant només els 41 animals trasplantats, la pneumonia representa el 7.31% de morbiditat, però si només es considera el grup on se'n ha donat aquesta complicació, la pneumonia s'ha produït en un 13.04% dels animals receptors de l'alotrasplantament de budell prim. Cal també assenyalar que la detecció de la pneumonia s'ha fet en el moment del sacrifici de manera que, si aquest s'hagués postergat, és possible que aquesta complicació hagués causat la mort als animals.

Valorant només els dos grups d'animals trasplantats, B i C, la morbiditat i mortalitat globals, tant de causa tècnica com associades a problemes immunològics del model experimental, es mostren a la taula següent:

<b>GRUP</b>	<b>MORTALITAT TECNICA</b>	<b>MORTALITAT MODEL</b>	<b>MORTALITAT GLOBAL</b>	<b>MORBIDITAT TECNICA</b>	<b>MORBIDITAT MODEL</b>	<b>MORBIDITAT GLOBAL</b>
<b>B</b> (n=18)	3 (16.66%)	0	3 (16.66%)	2 (11.11%)	0	2 (11.11%)
<b>C</b> (n=23)	4 (17.39%)	4 (17.39%)	8 (34.78%)	1 (4.34%)	3 (13.04%)	4 (17.39%)

**TAULA 20: Morbimortalitat global dels animals trasplantats**

Es pot observar que si bé la morbimortalitat de causa tècnica apareix en els dos grups d'animals trasplantats, la produïda com a complicació pròpia del model experimental només es dona en els animals receptors d'alotrasplantament (grup C).

#### **4.3. EVOLUCIO CLINICA DELS ANIMALS TRASPLANTATS**

En general, en els animals que han presentat complicacions mortals o no, aquestes han estat detectades precoçment a través de l'observació d'alteracions de la seva apariència habitual. Així, excepte en el cas de les complicacions als estomes cutanis, els primers signes clínics indicadors de la presència d'alguna complicació han estat el pèl eriçat i l'adopció d'una posició en retracció amb resposta escassa als estímuls. En els casos de rebuig, s'ha pogut observar externament la presència de sang al musell i lacrimals, les deposicions han perdut la seva consistència habitual i s'ha palpat una massa a la regió abdominal.

Dels tres casos amb pneumonia, només en un d'ells es varen observar restes hemàtics al musell, mentre en els altres dos animals afectats no es varen apreciar alteracions clíniques.

#### **4.4. VARIACIONS DEL PES**

##### **4.4.1. CRITERIS D'HOMOGENEITAT I NORMALITAT DE LES DADES**

Tots els valors de cada sèrie compleixen els criteris d'homogeneïtat i provenen de poblacions amb distribució normal, per tant, poden ser utilitzats per a la inferència estadística ( $p \geq 0.05$  amb el test d'independència).

##### **4.4.2. VARIACIONS DEL PES EN EL TEMPS**

El pes ha estat registrat diàriament des del dia previ a la intervenció fins als 7 dies del postoperatori, tant en els animals intervinguts només una vegada (sèries a i b) com en els sotmesos a un segon temps operatori (sèries c). Posteriorment a aquests 7 dies postoperatoris, les determinacions s'han realitzat cada 48 hores fins el dia del sacrifici.

Per a determinar en quin moment de l'evolució postoperatoria es produeix una variació de pes significativa, la determinació de pes corresponent a cada interval de temps ( $P_x$ ) ha estat comparada amb el pes obtingut el mateix dia de la intervenció. Aquest pes inicial serà el corresponent al dia 0 ( $P_0$ ) en totes les sèries i, a més a més, també serà el corresponent al dia 21 ( $P_{21}$ ) en les sèries c, en les quals, com es pot recordar, es realitza la interposició ortotòpica del budell als 21 dies.

En totes les sèries s'han calculat les mitjanes, desviacions estàndard, valors màxim i mínim i diferències entre pes inicial ( $P_0$ ,  $P_{21}$ ) i pes final ( $P_x$ ). Tanmateix, aquesta diferència entre el pes inicial i el final s'ha expressat en tant per cent de pèrdua o augment respecte al pes inicial. El grau de significació de les diferències entre les mitjanes del pes inicial i del pes als diferents intervals de temps ha estat establert amb el mètode de la  $t$  de Student per a mostres petites. Les dades obtingudes es mostren a les taules 21 a 29. L'evolució del pes en cadascun dels grups es pot observar en forma de corbes a les GRAFIQUES 1 a 3.

**GRUP A: control nansa de Thiry Vella  
 SERIE Aa (n = 5)**

TEMPS (dies)	mitjana	desviació estàndard	màxim	mínim	comparació P <sub>0</sub> P <sub>x</sub>	diferència P <sub>0</sub> - P <sub>x</sub>	%
0	313.80	10.37	329	300	-	-	-
1	308.20	11.16	325	294	P <sub>0</sub> P <sub>1</sub> NS	5.60	- 1.78
2	305.60	10.69	322	292	P <sub>0</sub> P <sub>2</sub> NS	8.20	- 2.61
3	303.40	9.96	317	289	P <sub>0</sub> P <sub>3</sub> NS	10.40	- 3.31
4	300.80	8.98	312	288	P <sub>0</sub> P <sub>4</sub> NS	13.00	- 4.14
5	301.40	9.31	312	290	P <sub>0</sub> P <sub>5</sub> NS	12.40	- 3.95
6	305.20	10.56	317	292	P <sub>0</sub> P <sub>6</sub> NS	8.60	- 2.74
7	309.80	12.02	325	297	P <sub>0</sub> P <sub>7</sub> NS	4.00	- 1.27

**TAULA 21**

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA I GRAU DE SIGNIFICACIÓ ENTRE PES INICIAL I PES A DIFERENTS INTERVALS DE TEMPS

NS = No Significatiu    \* p < 0.05    \*\* p < 0.01    \*\*\* p < 0.001

SERIE Ab (n=5)

TEMPS (dies)	mitjana	desviació estàndard	màxim	mínim	comparació P <sub>0</sub> P <sub>x</sub>	diferència P <sub>0</sub> - P <sub>x</sub>	%
0	263.80	4.81	270	260	-	-	-
1	258.00	5.61	264	252	P <sub>0</sub> P <sub>1</sub> NS	5.80	- 2.19
2	254.80	5.89	262	249	P <sub>0</sub> P <sub>2</sub> *	9.00	- 3.41
3	253.00	6.92	262	246	P <sub>0</sub> P <sub>3</sub> *	10.80	- 4.09
4	251.20	6.37	260	244	P <sub>0</sub> P <sub>4</sub> **	12.60	- 4.77
5	252.80	3.56	258	249	P <sub>0</sub> P <sub>5</sub> **	11.00	- 4.16
6	254.40	3.20	257	250	P <sub>0</sub> P <sub>6</sub> **	9.40	- 3.56
7	258.40	3.84	262	252	P <sub>0</sub> P <sub>7</sub> NS	5.40	- 2.04
9	264.40	4.21	269	258	P <sub>0</sub> P <sub>9</sub> NS	- 0.60	+ 0.22
11	268.20	2.86	272	264	P <sub>0</sub> P <sub>11</sub> NS	- 4.40	+ 1.66
13	271.40	2.60	275	268	P <sub>0</sub> P <sub>13</sub> *	- 7.60	+ 2.88
14	274.60	3.57	280	270	P <sub>0</sub> P <sub>14</sub> *	-10.80	+ 4.09

TAULA 22

ESTADISTICA DESCRIPTIVA I GRAU DE SIGNIFICACIO ENTRE PES INICIAL I PES A DIFERENTS INTERVALS DE TEMPS

NS=No Significatiu \* p<0.05 \*\* p<0.01 \*\*\* p<0.001

SERIE Ac (n = 5)

TEMPS (dies)	mitjana	desviació estàndard	màxim	mínim	comparació P <sub>0</sub> P <sub>x</sub>	diferència P <sub>0</sub> - P <sub>x</sub>	%
0	304.60	5.72	310	297	-	-	-
1	300.20	5.26	306	295	P <sub>0</sub> P <sub>1</sub> NS	4.40	- 1.44
2	297.00	4.89	304	292	P <sub>0</sub> P <sub>2</sub> NS	7.60	- 2.49
3	295.20	4.60	300	290	P <sub>0</sub> P <sub>3</sub> *	9.40	- 3.08
4	293.60	5.12	301	288	P <sub>0</sub> P <sub>4</sub> *	11.00	- 3.61
5	293.80	6.49	304	286	P <sub>0</sub> P <sub>5</sub> *	10.80	- 3.54
6	294.40	7.63	307	287	P <sub>0</sub> P <sub>6</sub> *	10.20	- 3.34
7	296.60	7.30	309	290	P <sub>0</sub> P <sub>7</sub> NS	8.00	- 2.62
9	299.20	5.26	308	295	P <sub>0</sub> P <sub>9</sub> NS	5.40	- 1.77
11	298.80	3.03	303	296	P <sub>0</sub> P <sub>11</sub> NS	5.80	- 1.90
13	300.60	4.50	308	296	P <sub>0</sub> P <sub>13</sub> NS	4.00	- 1.31
15	301.80	5.06	310	297	P <sub>0</sub> P <sub>15</sub> NS	2.80	- 0.91
17	303.40	4.92	311	298	P <sub>0</sub> P <sub>17</sub> NS	1.20	- 0.39
19	304.60	5.50	313	298	P <sub>0</sub> P <sub>19</sub> NS	0.00	0.00
21	306.20	5.71	315	300	P <sub>0</sub> P <sub>21</sub> NS	- 1.60	+ 0.52
22	298.00	7.00	309	290	P <sub>21</sub> P <sub>22</sub> NS	8.20	- 2.67
23	293.60	7.02	304	285	P <sub>21</sub> P <sub>23</sub> *	12.60	- 4.11
24	289.40	7.12	300	280	P <sub>21</sub> P <sub>24</sub> **	16.80	- 5.48
25	286.80	7.85	300	280	P <sub>21</sub> P <sub>25</sub> **	19.40	- 6.33
26	285.20	9.06	299	274	P <sub>21</sub> P <sub>26</sub> **	21.00	- 6.85
27	285.00	7.03	297	280	P <sub>21</sub> P <sub>27</sub> ***	21.20	- 6.92
28	286.80	8.16	301	281	P <sub>21</sub> P <sub>28</sub> **	19.40	- 6.33
30	289.00	8.00	303	284	P <sub>21</sub> P <sub>30</sub> **	17.20	- 5.61
32	291.00	7.71	304	284	P <sub>21</sub> P <sub>32</sub> **	15.20	- 4.96
34	293.20	8.10	307	286	P <sub>21</sub> P <sub>34</sub> **	13.00	- 4.24
36	295.40	9.12	310	285	P <sub>21</sub> P <sub>36</sub> NS	10.80	- 3.52

TAULA 23

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA I GRAU DE SIGNIFICACIÓ ENTRE PES INICIAL I PES A DIFERENTS INTERVALS DE TEMPS

NS = No Significatiu \* p < 0.05 \*\* p < 0.01 \*\*\* p < 0.001

**GRUP B: isotrasplantament LEW-LEW**  
**SERIE Ba (n = 5)**

TEMPS (dies)	mitjana	desviació estàndard	màxim	mínim	comparació P <sub>0</sub> P <sub>x</sub>	diferència P <sub>0</sub> - P <sub>x</sub>	%
0	352.00	10.04	367	340	-	-	-
1	341.80	8.64	356	335	P <sub>0</sub> P <sub>1</sub> NS	10.20	- 2.89
2	335.00	10.09	353	330	P <sub>0</sub> P <sub>2</sub> *	17.00	- 4.82
3	332.40	10.01	350	325	P <sub>0</sub> P <sub>3</sub> *	19.60	- 5.56
4	329.40	7.63	341	320	P <sub>0</sub> P <sub>4</sub> **	22.60	- 6.42
5	327.80	7.42	333	315	P <sub>0</sub> P <sub>5</sub> **	24.20	- 6.87
6	327.80	10.20	335	310	P <sub>0</sub> P <sub>6</sub> **	24.20	- 6.87
7	329.60	10.31	337	312	P <sub>0</sub> P <sub>7</sub> **	22.40	- 6.36

**TAULA 24**  
 ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA I GRAU DE SIGNIFICACIÓ ENTRE PES INICIAL I PES A DIFERENTS INTERVALS DE TEMPS  
 NS=No Significatiu \* p<0.05 \*\* p<0.01 \*\*\* p<0.001

SERIE Bb (n=5)

TEMPS (dies)	mitjana	desviació estàndard	màxim	mínim	comparació P <sub>0</sub> P <sub>x</sub>	diferència P <sub>0</sub> - P <sub>x</sub>	%
0	332.20	13.80	347	312	-	-	-
1	318.80	10.84	330	307	P <sub>0</sub> P <sub>1</sub> NS	13.40	- 4.03
2	308.00	18.85	328	277	P <sub>0</sub> P <sub>2</sub> *	24.20	- 7.28
3	306.20	18.59	327	277	P <sub>0</sub> P <sub>3</sub> *	26.00	- 7.82
4	305.80	22.16	331	272	P <sub>0</sub> P <sub>4</sub> NS	26.40	- 7.94
5	308.40	20.83	335	279	P <sub>0</sub> P <sub>5</sub> NS	23.80	- 7.16
6	311.80	18.91	339	290	P <sub>0</sub> P <sub>6</sub> NS	20.40	- 6.14
7	315.40	17.57	342	299	P <sub>0</sub> P <sub>7</sub> NS	16.80	- 5.05
9	321.00	18.81	348	298	P <sub>0</sub> P <sub>9</sub> NS	11.20	- 3.37
11	327.20	19.91	353	300	P <sub>0</sub> P <sub>11</sub> NS	5.00	- 1.50
13	332.00	20.08	357	305	P <sub>0</sub> P <sub>13</sub> NS	0.20	- 0.06
14	334.40	21.31	360	305	P <sub>0</sub> P <sub>15</sub> NS	- 2.00	+ 0.60

TAULA 25

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA I GRAU DE SIGNIFICACIÓ ENTRE PES INICIAL I PES A DIFERENTS INTERVALS DE TEMPS

NS = No Significatiu \* p < 0.05 \*\* p < 0.01 \*\*\* p < 0.001

SERIE Bc (n = 5)

TEMPS (dies)	mitjana	desviació estàndard	màxim	mínim	comparació P <sub>0</sub> P <sub>x</sub>	diferència P <sub>0</sub> - P <sub>x</sub>	%
0	350.20	3.96	355	345	-	-	-
1	335.40	3.57	340	332	P <sub>0</sub> P <sub>1</sub> ***	14.80	- 4.22
2	327.20	5.54	335	322	P <sub>0</sub> P <sub>2</sub> ***	23.00	- 6.56
3	322.20	7.04	330	313	P <sub>0</sub> P <sub>3</sub> ***	28.00	- 7.99
4	319.60	5.94	328	313	P <sub>0</sub> P <sub>4</sub> ***	30.60	- 8.73
5	321.00	3.31	326	317	P <sub>0</sub> P <sub>5</sub> ***	29.20	- 8.33
6	323.20	4.71	327	315	P <sub>0</sub> P <sub>6</sub> ***	27.00	- 7.70
7	325.60	8.17	330	312	P <sub>0</sub> P <sub>7</sub> ***	24.60	- 7.02
9	329.00	7.14	336	318	P <sub>0</sub> P <sub>9</sub> ***	21.20	- 6.05
11	332.00	7.03	340	322	P <sub>0</sub> P <sub>11</sub> ***	18.20	- 5.19
13	335.60	6.98	342	328	P <sub>0</sub> P <sub>13</sub> **	14.60	- 4.16
15	339.40	7.12	345	329	P <sub>0</sub> P <sub>15</sub> *	10.80	- 3.08
17	342.80	8.92	350	329	P <sub>0</sub> P <sub>17</sub> NS	7.40	- 2.11
19	346.40	10.23	355	330	P <sub>0</sub> P <sub>19</sub> NS	3.80	- 1.08
21	349.80	12.25	360	330	P <sub>0</sub> P <sub>21</sub> NS	0.40	- 0.11
22	318.00	8.03	327	305	P <sub>21</sub> P <sub>22</sub> **	31.80	- 9.09
23	312.00	8.27	320	298	P <sub>21</sub> P <sub>23</sub> ***	37.80	-10.80
24	289.40	7.12	300	280	P <sub>21</sub> P <sub>24</sub> ***	41.00	-11.72
25	306.40	9.42	314	290	P <sub>21</sub> P <sub>25</sub> ***	43.40	-12.40
26	306.80	8.31	315	293	P <sub>21</sub> P <sub>26</sub> ***	43.00	-12.29
27	306.00	8.24	315	295	P <sub>21</sub> P <sub>27</sub> ***	43.80	-12.52
28	307.80	7.32	317	299	P <sub>21</sub> P <sub>28</sub> ***	42.00	-12.00
30	309.60	6.87	320	302	P <sub>21</sub> P <sub>30</sub> ***	40.20	-11.49
32	312.00	5.33	321	307	P <sub>21</sub> P <sub>32</sub> ***	37.80	-10.80
34	314.40	5.17	320	310	P <sub>21</sub> P <sub>34</sub> ***	35.40	-10.12
36	318.40	8.79	332	310	P <sub>21</sub> P <sub>36</sub> **	31.40	- 8.97

TAULA 26

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA I GRAU DE SIGNIFICACIÓ ENTRE PES INICIAL I PES A DIFERENTS INTERVALS DE TEMPS

NS=No Significatiu \* p<0.05 \*\* p<0.01 \*\*\* p<0.001

**GRUP C: Alotrasplantament LBN-LEW**  
**SERIE Ca (n = 5)**

TEMPS (dies)	mitjana	desviació estàndard	màxim	mínim	comparació P <sub>0</sub> P <sub>x</sub>	diferència P <sub>0</sub> - P <sub>x</sub>	%
0	335.00	7.00	343	328	-	-	-
1	317.20	15.28	336	300	P <sub>0</sub> P <sub>1</sub> *	17.80	- 5.31
2	313.20	18.43	334	290	P <sub>0</sub> P <sub>2</sub> *	21.80	- 6.50
3	311.40	18.54	332	288	P <sub>0</sub> P <sub>3</sub> *	23.60	- 7.04
4	309.40	18.54	330	286	P <sub>0</sub> P <sub>4</sub> *	25.60	- 7.64
5	309.00	18.60	328	284	P <sub>0</sub> P <sub>5</sub> *	26.00	- 7.76
6	309.00	18.43	326	282	P <sub>0</sub> P <sub>6</sub> *	26.00	- 7.76
7	309.40	18.62	325	280	P <sub>0</sub> P <sub>7</sub> *	25.60	- 7.64

**TAULA 27**

**ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA I GRAU DE SIGNIFICACIÓ ENTRE PES INICIAL I PES A DIFERENTS INTERVALS DE TEMPS**

NS = No Significatiu    \* p < 0.05    \*\* p < 0.01    \*\*\* p < 0.001

SERIE Cb (n = 5)

TEMPS (dies)	mitjana	desviació estàndard	màxim	mínim	comparació P <sub>0</sub> P <sub>x</sub>	diferència P <sub>0</sub> - P <sub>x</sub>	%
0	265.20	17.07	284	245	-	-	-
1	251.80	14.51	270	235	P <sub>0</sub> P <sub>1</sub> NS	13.40	- 5.05
2	249.80	12.23	265	235	P <sub>0</sub> P <sub>2</sub> NS	15.40	- 5.80
3	248.80	9.49	260	235	P <sub>0</sub> P <sub>3</sub> NS	16.40	- 6.18
4	244.40	9.86	255	232	P <sub>0</sub> P <sub>4</sub> *	20.80	- 7.84
5	238.80	7.19	248	230	P <sub>0</sub> P <sub>5</sub> *	26.40	- 9.95
6	236.80	3.63	243	234	P <sub>0</sub> P <sub>6</sub> *	28.40	-10.70
7	240.60	2.19	244	238	P <sub>0</sub> P <sub>7</sub> *	24.60	- 9.27
9	244.60	2.88	249	242	P <sub>0</sub> P <sub>9</sub> *	20.60	- 7.76
11	254.60	7.09	267	249	P <sub>0</sub> P <sub>11</sub> NS	10.60	- 3.99
13	253.00	8.18	264	241	P <sub>0</sub> P <sub>13</sub> NS	12.20	- 4.60
14	251.60	12.07	263	231	P <sub>0</sub> P <sub>14</sub> NS	13.60	- 5.12

TAULA 28

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA I GRAU DE SIGNIFICACIÓ ENTRE PES INICIAL I PES A DIFERENTS INTERVALS DE TEMPS

NS = No Significatiu \* p < 0.05 \*\* p < 0.01 \*\*\* p < 0.001

SERIE Cc (n = 5)

TEMPS (dies)	mitjana	desviació estàndard	màxim	mínim	comparació P <sub>0</sub> P <sub>x</sub>	diferència P <sub>0</sub> - P <sub>x</sub>	%
0	267.80	12.33	282	255	-	-	-
1	254.20	9.62	266	245	P <sub>0</sub> P <sub>1</sub> NS	13.60	- 5.07
2	249.40	9.44	261	240	P <sub>0</sub> P <sub>2</sub> *	18.40	- 6.87
3	247.00	8.21	257	238	P <sub>0</sub> P <sub>3</sub> *	20.80	- 7.76
4	244.00	7.24	253	236	P <sub>0</sub> P <sub>4</sub> *	23.80	- 8.88
5	241.60	5.77	249	235	P <sub>0</sub> P <sub>5</sub> **	26.20	- 9.78
6	242.60	4.03	247	237	P <sub>0</sub> P <sub>6</sub> **	25.20	- 9.41
7	245.20	3.96	250	240	P <sub>0</sub> P <sub>7</sub> **	22.60	- 8.43
9	248.00	2.73	252	245	P <sub>0</sub> P <sub>9</sub> **	19.80	- 7.39
11	251.40	2.30	254	248	P <sub>0</sub> P <sub>11</sub> *	16.40	- 6.12
13	252.80	2.58	256	249	P <sub>0</sub> P <sub>13</sub> *	15.00	- 5.60
15	253.80	3.42	258	249	P <sub>0</sub> P <sub>15</sub> *	14.00	- 5.22
17	255.60	3.36	260	251	P <sub>0</sub> P <sub>17</sub> NS	12.20	- 4.55
19	257.40	3.36	262	253	P <sub>0</sub> P <sub>19</sub> NS	10.40	- 3.88
21	259.40	4.21	265	254	P <sub>0</sub> P <sub>21</sub> NS	8.40	- 3.13
22	243.20	1.64	245	241	P <sub>21</sub> P <sub>22</sub> ***	16.20	- 6.24
23	236.40	3.50	240	231	P <sub>21</sub> P <sub>23</sub> ***	23.00	- 8.86
24	235.00	2.91	239	231	P <sub>21</sub> P <sub>24</sub> ***	24.40	- 9.40
25	232.00	3.80	237	227	P <sub>21</sub> P <sub>25</sub> ***	27.40	-10.56
26	229.20	4.96	235	222	P <sub>21</sub> P <sub>26</sub> ***	30.20	-11.64
27	226.00	7.31	233	214	P <sub>21</sub> P <sub>27</sub> ***	33.40	-12.87
28	221.60	12.42	231	200	P <sub>21</sub> P <sub>28</sub> ***	37.80	-14.57
30	218.40	16.13	229	190	P <sub>21</sub> P <sub>30</sub> ***	41.00	-15.80
32	216.60	17.75	227	185	P <sub>21</sub> P <sub>32</sub> ***	42.80	-16.49
34	215.20	18.61	225	182	P <sub>21</sub> P <sub>34</sub> ***	44.20	-17.03
36	213.80	18.99	225	180	P <sub>21</sub> P <sub>36</sub> ***	45.60	-17.57

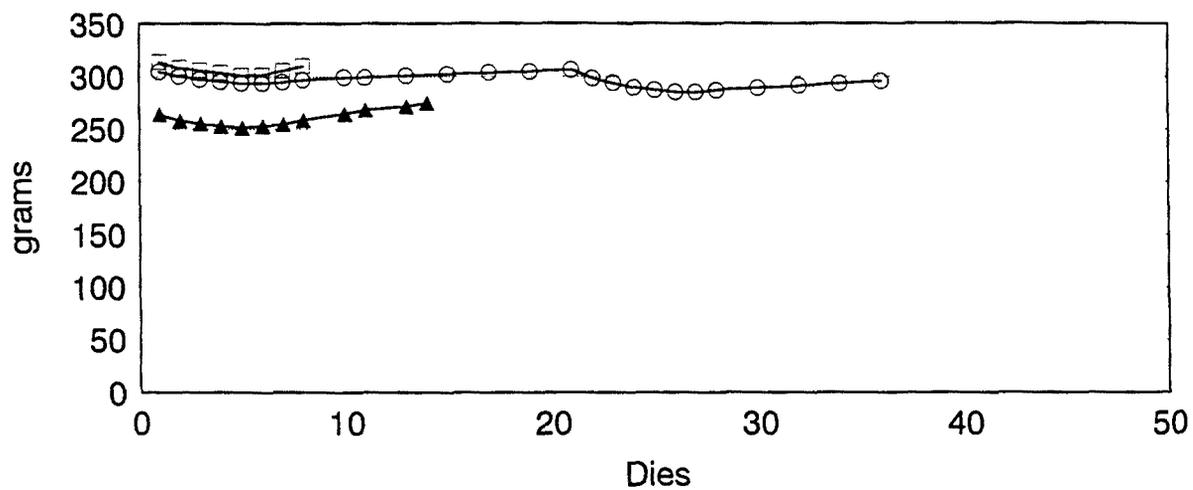
TAULA 29

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA I GRAU DE SIGNIFICACIO ENTRE PES INICIAL I PES A DIFERENTS INTERVALS DE TEMPS

NS=No Significatiu \* p<0.05 \*\* p<0.01 \*\*\* p<0.001

### GRAFICA 1

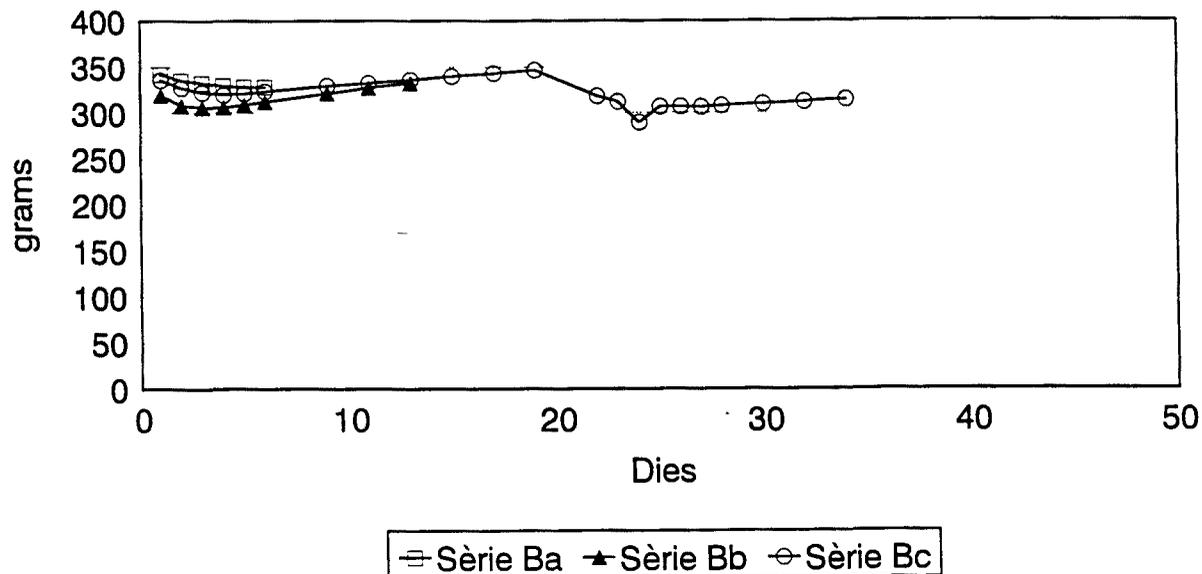
## VARIACIONS DEL PES (Grup A)



○ Sèrie Aa    ▲ Sèrie Ab    ○ Sèrie Ac

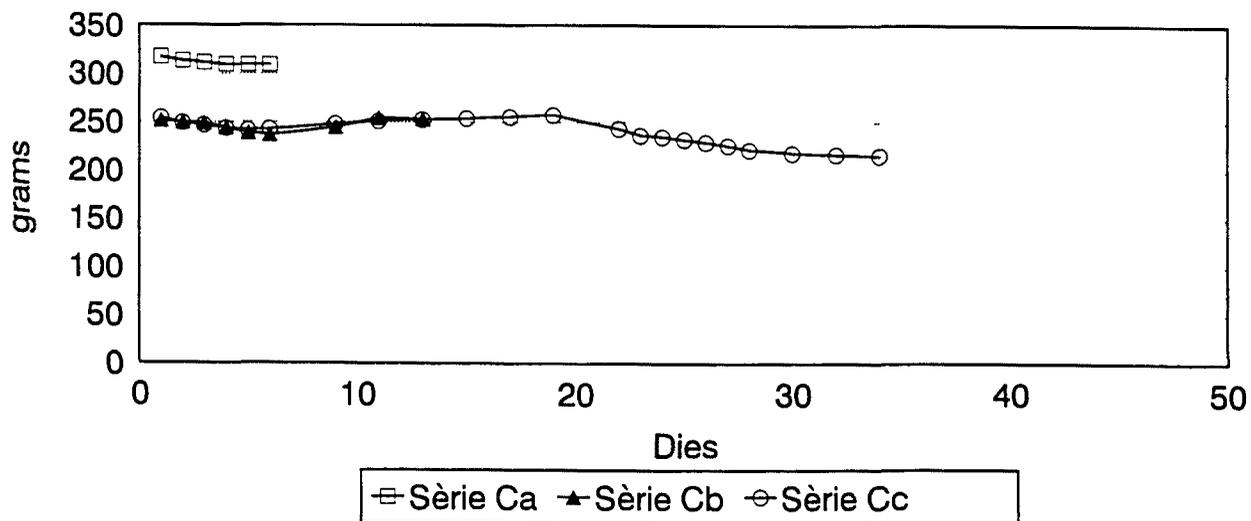
## GRAFICA 2

### VARIACIONS DEL PES (Grup B)



## GRAFICA 3

### VARIACIONS DEL PES (Grup C)



#### **4.4.2.1. Grup A**

En observar les mitjanes de pes dels animals portadors de nansa de Thiry-Vella (TAULES 21, 22 i 23) s'ha observat que es produeix una pèrdua de pes progressiva posterior a la intervenció. Aquesta pèrdua de pes es manté fins al dia 4 del postoperatori en les tres sèries d'animals del grup, però la diferència entre el pes inicial i els pesos corresponents als dies primer al quart només es mostra estadísticament significativa en les sèries **b** i **c** a partir del segon i tercer dia respectivament.

Posteriorment al dia 4, els animals tendeixen a recuperar pes i, fins i tot, arriben a assolir el seu pes inicial. Aquesta recuperació es mostra més ràpida en els animals de la sèrie **b**, els quals arriben al pes inicial el dia 9, mentre que els de la sèrie **c** no ho fan fins el dia 19 postoperatori.

Després de la interposició ortotòpica del budell prim (TAULA 23), en les rates de la sèrie **c** s'observa de nou una pèrdua de pes, el percentatge de la qual respecte al pes previ, ara corresponent al dia 21, és superior al que es produïa en relació a la primera intervenció. En aquests animals, la pèrdua de pes mostra diferències estadísticament significatives respecte al pes inicial ja des del primer dia post-reintervenció (dia 22), i la tendència a la recuperació dels valors inicials no es produeix fins a 6 dies després (dia 27). Aquest augment progressiu de pes es manté fins el final de l'estudi, tot mostrant diferències estadísticament no significatives el dia 36.

#### **4.4.2.2. Grup B**

Després del isotrasplantament heterotòpic de budell prim (TAULES 24, 25 i 26), els animals han presentat una pèrdua de pes progressiva fins els dies 4 a 6 postoperatoris, amb diferències estadísticament significatives respecte al pes inicial a partir del segon dia en les sèries **a** i **b**, i ja des del primer dia en la sèrie **c**.

Posteriorment al dia 4, s'ha observat una tendència a la recuperació del pes en tots els animals, tot assolint-se un pes similar a l'inicial al voltant dels dies 13 a 15 en la sèrie **b** i dels dies 20 a 21 en la sèrie **c**.

En els animals de la sèrie **c** (TAULA 26), posteriorment a la interposició ortotòpica s'ha produït una pèrdua de pes amb diferències estadísticament significatives a partir del primer dia postoperatori (dia 22). Aquesta pèrdua evoluciona progressivament fins el dia 6 postintervenció (dia 27), on mostra un percentatge que arriba a valors de -12.52% respecte al pes inicial pre-reintervenció. Posteriorment al dia 27, també es tendeix a la recuperació, però les diferències de pes es mantenen estadísticament significatives fins al final de l'estudi.

#### **4.4.2.3. Grup C**

En els animals receptors d'un alotrasplantament heterotòpic de budell prim, es produeix una pèrdua de pes progressiva fins els dies 5 a 6 postoperatoris (TAULES 27, 28 i 29), amb un percentatge de pèrdua respecte al pes inicial que va del -7.76% observat a la sèrie **a** fins al -10.70% observat a la sèrie **b**.

Posteriorment, es tendeix a un lent i progressiu augment de pes, sense arribar a assolir el pes inicial ni després de 21 dies en els animals de la sèrie **c**, si bé les diferències de pes respecte a l'inicial no es mostren estadísticament significatives a partir del dia 17 post-trasplantament.

Després de la interposició ortotòpica del budell trasplantat (TAULA 29), es produeix de nou una pèrdua de pes amb diferències estadísticament significatives ja des del primer dia post-reintervenció (dia 22). Tal pèrdua de pes arriba a ser de -17.57% respecte al pes pre-reintervenció el dia final de l'estudi (dia 36).

#### **4.4.3. COMPARACIÓ DE LES VARIACIONS DE PES ENTRE ELS GRUPS**

Els percentatges de pèrdua o augment de pes observats en cada grup d'animals han estat comparats entre les sèries equivalents per tal de relacionar les variacions observades amb el model experimental utilitzat.

Els intervals de temps escollits per a realitzar les comparacions han estat els següents:

- \* 24 hores post-primera intervenció (**dia 1**): per a totes les sèries.
- \* Dia de màxima pèrdua de pes post-primera intervenció (**dia max.1**): per a totes les sèries.
- \* 24 hores post-interposició ortotòpica (**dia 22**): per a les sèries **c**.
- \* Dia de màxima pèrdua de pes post-reintervenció (**dia max.2**): per a les sèries **c**.
- \* Pes al final de l'estudi: **dia 7** per a les sèries **a**, **dia 14** per a les sèries **b**, **dia 36** per a les sèries **c**.

La comparació dels valors d'aquests percentatges ha estat realitzada mitjançant el mètode de la *t* de Student. Les dades obtingudes es mostren a la TAULA 30 i es representen a la GRAFICA 4.

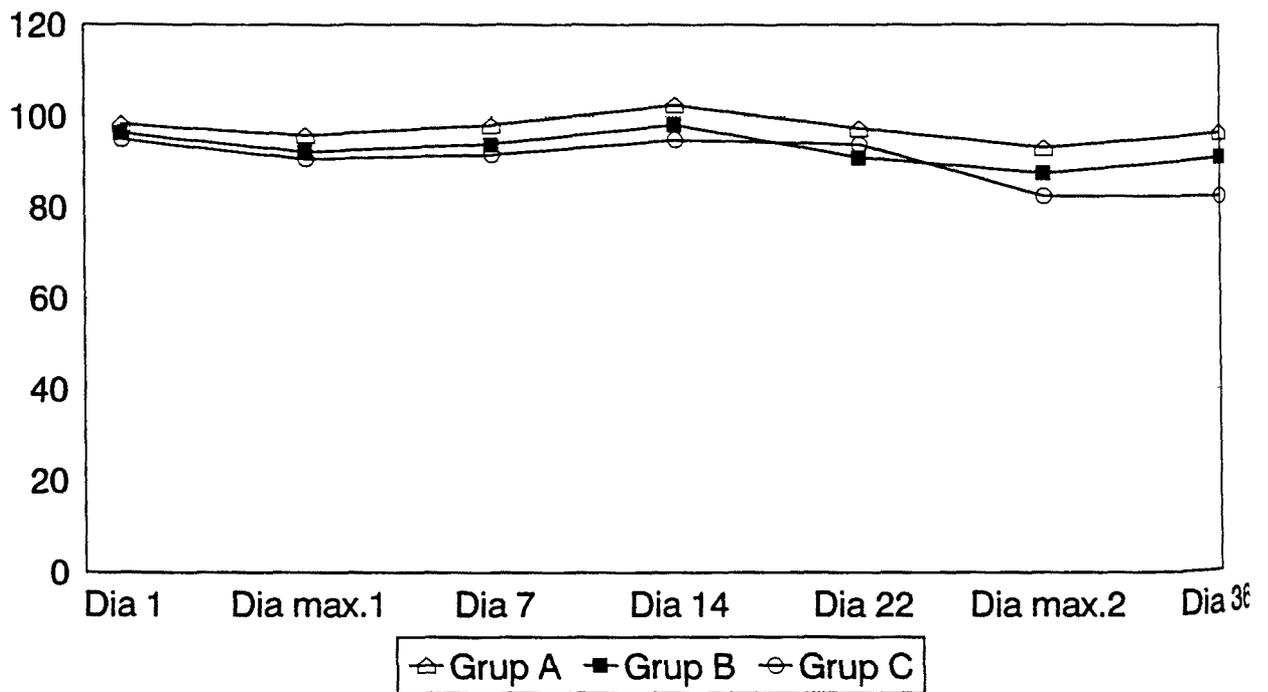
		Dia 1	Dia max.1	Dia 7	Dia 14	Dia 22	Dia max.2	Dia 36
Series a	Aa	-1.78	-4.14 (Dia 4)	-1.27	----	----	----	----
	Ba	-2.89	-6.87 (Dia 5-6)	-6.36	----	----	----	----
	Ca	-5.31	-7.76 (Dia 5-6)	-7.64	----	----	----	----
Series b	Ab	-2.19	-4.77 (Dia 4)	-2.04	+4.09	----	----	----
	Bb	-4.03	-7.94 (Dia 4)	-5.05	+0.60	----	----	----
	Cb	-5.05	-10.70 (Dia 6)	-9.27	-5.12	----	----	----
Series c	Ac	-1.44	-3.61 (Dia 4)	-2.62	-0.91	-2.67	-6.92 (Dia 27)	-3.52
	Bc	-4.22	-8.73 (Dia 4)	-7.02	-3.08	-9.09	-12.52 (Dia 27)	-8.97
	Cc	-5.07	-9.78 (Dia 5)	-8.43	-5.22	-6.24	-17.57 (Dia 36)	-17.57

**TAULA 30**

PERCENTATGE MITJA DE VARIACIÓ DE PES RESPECTE A L'INICIAL ALS DIFERENTS INTERVALS DE TEMPS EN TOTES LES SÈRIES

**GRAFICA 4**

**PERCENTATGE DE VARIACIO DE PES**



A la GRAFICA 4, pot observar-se com la màxima pèrdua de pes posterior a la primera intervenció es produeix al voltant dels 4-6 dies en tots tres grups. Aquesta pèrdua de pes és més important en el grup d'animals alotrasplantats, amb valors entre -7.76 i -10.70% respecte al pes inicial, essent discretament inferior després del isotrasplantament, amb pèrdues del 6.87 al 8.73%.

A les 24 hores de la intervenció quirúrgica, el percentatge de pèrdua de pes respecte a l'inicial és inferior en el grup control A que en els grups B i C d'animals trasplantats. Els valors del grup control A oscilen entre -1.78 i -2.19%, mentre que en els animals isotrasplantats o del grup B, la pèrdua de pes es mostra de -2.89 a -4.29 i en els alotrasplantats o del grup C és de -5.05 a 5.31%. Aquesta tendència a perdre pes que s'observa en els animals trasplantats persisteix durant tot el període d'estudi.

Pel que fa a la recuperació dels valors de pes inicial, també es donen diferències entre els tres grups. En el grup d'animals isotrasplantats s'observa una tendència cap a la recuperació de pes similar, malgrat que més lenta, a la que presenten els animals no trasplantats del grup control. En canvi, els animals alotrasplantats no mostren signes de recuperació de pes, tot persistint la tendència a la pèrdua fins el final de l'estudi.

#### 4.5. CARACTERISTIQUES MICROMORFOLOGIQUES

A la paret intestinal, s'han valorat les alteracions micromorfològiques de les vellositats, criptes i làmina pròpia, així com la presència de bacteries a la llum intestinal. L'estudi de la micromorfologia s'ha realitzat a partir de l'observació microscòpica de cinc mostres corresponents a cadascun dels intervals de temps de 10 minuts, 7 dies, 14 dies, 21 dies i 36 dies, excepte en el cas del Grup A en el qual la mostra post-reperfusió als 10 minuts no existeix. L'aspecte microscòpic de les diverses estructures de la paret intestinal es mostra a les TAULES 31, 32 i 33.

Aquestes alteracions han estat quantificades en forma de *score* o puntuació tal com ha estat explicat a l'apartat corresponent. Per tal d'obtenir una major informació, el valor total de la puntuació obtinguda ha estat desdoblant en dos valors segons les alteracions observades es localitzessin a la superfície intraluminal de l'epiteli (vellositats i criptes) o a zones més profundes de la paret intestinal (làmina pròpia i muscularis mucosae). El grau d'alteració s'ha valorat de 0 a 12 en la superfície intraluminal i de 0 a 10 en la zona profunda. En cap mostra s'han observat bacteries a la llum intestinal.

Els valors obtinguts, expressats en mitjanes i dispersions típiques, han estat comparats entre les sèries d'un mateix grup per tal d'observar les alteracions que es produeixen en relació al temps d'evolució. Tanmateix, s'han comparat les mitjanes entre les sèries equivalents dels grups diferents per tal d'observar les alteracions pròpies dels models experimentals d'iso i alotrasplantament intestinal (Grups B i C) i en relació amb el model control en nansa de Thiry-Vella (Grup A).

ZONA	10 minuts	7 dies	14 dies	21 dies	36 dies
Alteració vellositats	----	Curtes i amples	Curtes i amples Limfàtics no visibles	Curtes i amples	Curtes i amples
Alteració criptes	----	Dilatades en alguna mostra	Desorganització cel.lular	Desorganització cel.lular Dilatació	Curtes i amples
Làmina pròpia	----	Estasi vascular	Estasi vascular	Normal	Normal
Muscularis mucosae	----	Normal	Normal	Normal	Normal
Bacteries	----	No	No	No	No

TAULA 31: GRUP A: ALTERACIONS MICROMORFOLOGIQUES A LA PARET INTESTINAL DELS ANIMALS PORTADORS DE NANSA DE THIRY-VELLA

ZONA	10 minuts	7 dies	14 dies	21 dies	36 dies
Alteració vellositats	Normals o amb pèrdua cel.lular parcial a puntes	Allargades i estretes Limfàtics dilatats	Allargades i estretes Limfàtics no visibles	Allargades i amples Limfàtics no visibles	Allargades i estretes Limfàtics no visibles
Alteració criptes	Normals o dilatades en alguna mostra	Certa desorganització cel.lular	Dilatades	Dilatades	Dilatades
Làmina pròpia	Edema	Estasi vascular alguna mostra	Normal	Normal	Normal
Muscularis mucosae	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
Bacteries	No	No	No	No	No

TAULA 32: GRUP B: ALTERACIONS MICROMORFOLOGIQUES A LA PARET INTESTINAL DEL BUDELL PRIM ISOTRASPLANTAT (LEW→LEW)

ZONA	10 minuts	7 dies	14 dies	21 dies	36 dies
Alteració vellositats	Normals o amb pèrdua cel.lular parcial a puntes	Curtes i amples Limfàtics dilatats	Allargades i amples Pèrdua cel.lular parcial en alguna mostra	Allargades i amples Pèrdua cel.lular parcial	Allargades i estretes Pèrdua cel.lular parcial Infiltrat extravascular
Alteració criptes	Normals o dilatades en alguna mostra	Certa desorganització cel.lular	Desorganització cel.lular i dilatació	Desorganització cel.lular	Desorganització cel.lular i dilatació
Làmina pròpia	Edema	Infiltrat cel.lular en alguna mostra	Infiltrat cel.lular	Infiltrat cel.lular	Infiltrat cel.lular
Muscularis mucosae	Normal	Engruixida	Anormal	Anormal	Aprimada
Bacteries	No	No	No	No	No

TAULA 33: GRUP C: ALTERACIONS MICROMORFOLOGIQUES A LA PARET INTESTINAL DEL BUDELL PRIM ALOTRASPLANTAT (LBN→LEW)

#### **4.5.1. HOMOGENEITAT DE LES DADES**

Tot aplicant el test d'independència, s'ha comprovat que els valors obtinguts en les puntuacions corresponents a l'afectació global de la superfície intraluminal i a l'afectació de la zona profunda compleixen els criteris d'homogeneïtat ( $p \geq 0.05$ ). En canvi, no ha estat així quan es valora per separat cadascuna de les estructures (vellositats, criptes, làmina pròpia i muscularis mucosae).

En valorar l'homogeneïtat de variàncies ( $p \geq 0.05$  per a les proves de Cochran i Bartlett Box), aquesta condició no s'ha complert en les puntuacions corresponents a les sèries del Grup A, però cal recordar que la vulneració d'aquest requisit no afecta el grau de significació degut a que tots els grups a comparar tenen el mateix tamany ( $n = 5$ ), de manera que permet l'aplicació de l'anàlisi de variància per a realitzar les comparacions oportunes.

#### **4.5.2. VARIACIÓ DE LES CARACTERÍSTIQUES MORFOLÒGIQUES DE CADA GRUP EN EL TEMPS**

##### **4.5.2.1. Valor de la puntuació a la superfície intraluminal**

Els valors corresponents a les puntuacions obtingudes a partir de l'observació de la micromorfologia de les vellositats i criptes de la mucosa del budell prim es mostren expressats en mitjanes i dispersions típiques a les TAULES 34, 35 i 36 i es representen a la GRAFICA 5.

	10 minuts	7 dies	14 dies	21 dies	36 dies
<b>Alteració vellositats</b>	---	1.34±0.46	2.08±0.52	2.44±0.37	2.74±0.89
<b>Alteració criptes</b>	---	0.90±0.26	1.76±0.15	0.86±0.31	1.48±0.28
<b>Puntuació superfície</b>	---	2.24±0.57	3.84±0.49	3.30±0.62	4.22±0.37

**TAULA 34: GRUP A: GRAU D'AFECTACIÓ MICROMORFOLÒGICA DE LA SUPERFÍCIE INTRALUMINAL DE LA MUCOSA INTESTINAL DELS ANIMALS PORTADORS DE NANSA DE THIRY-VELLA**

	10 minuts	7 dies	14 dies	21 dies	36 dies
<b>Alteració vellositats</b>	2.24±1.72	2.22±0.49	1.30±0.97	2.34±0.40	2.62±0.69
<b>Alteració criptes</b>	0.20±0.27	1.50±0.47	1.00±0.00	1.00±0.00	1.42±0.31
<b>Puntuació superfície</b>	2.44±1.96	3.72±0.92	2.30±0.97	3.34±0.40	4.04±0.59

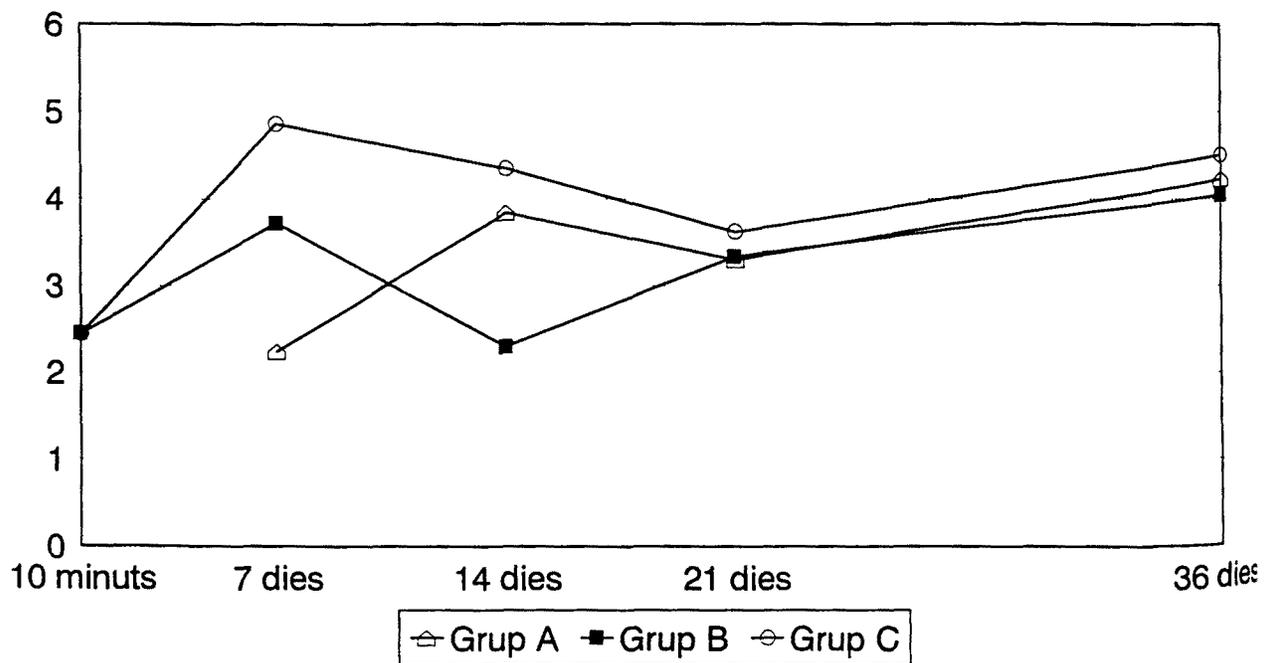
**TAULA 35: GRUP B: GRAU D'AFECTACIÓ MICROMORFOLÒGICA DE LA SUPERFÍCIE INTRALUMINAL DE LA MUCOSA DEL BUDELL PRIM ISOTRASPLANTAT (LEW→LEW)**

	10 minuts	7 dies	14 dies	21 dies	36 dies
<b>Alteració vellositats</b>	2.24±1.72	3.06±0.26	3.10±0.80	2.10±0.10	3.50±0.30
<b>Alteració criptes</b>	0.20±0.27	1.80±0.44	1.25±0.50	1.52±0.04	1.00±0.70
<b>Puntuació superfície</b>	2.44±1.96	4.86±0.54	4.35±1.16	3.62±0.13	4.50±0.90

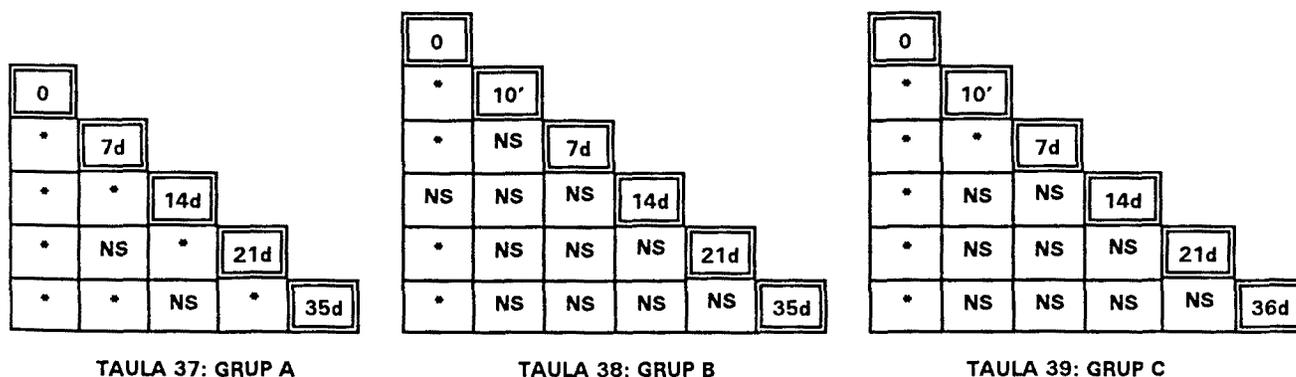
**TAULA 36: GRUP C: GRAU D'AFECTACIÓ MICROMORFOLÒGICA DE LA SUPERFÍCIE INTRALUMINAL DE LA MUCOSA DEL BUDELL PRIM ALOTRASPLANTAT (LBN→LEW)**

**GRAFICA 5**

**PUNTUACIO SUPERFICIE INTRALUMINAL**



L'aplicació de l'anàlisi de varianza i la prova de contrast de Scheffé per a valorar la influència del factor temps sobre les alteracions globals de la micromorfologia de la superfície intraluminal de la mucosa intestinal en els tres models experimentals, ha mostrat diferències estadísticament significatives ( $p \leq 0.05$ ) tal com s'assenyala a les TAULES 37, 38 i 39.



En el Grup A, la mucosa del budell prim disposat en forma de nansa de Thiry-Vella mostra un grau d'afectació progressiu sobre tot a expenses d'alteracions a les vellositats, les quals tendeixen a perdre alçada i eixamplar-se.

Tanmateix, pot observar-se la dilatació a les criptes i una certa degeneració cel.lular, tot conservant la capacitat de regeneració la qual pot comprovar-se per la presència de mitosis.

Els valors de les puntuacions d'aquestes alteracions micromorfològiques mostren diferències estadísticament significatives respecte al budell normal ja des dels 7 dies postoperatoris i continuen mantenint-se estadísticament significatives entre els diferents períodes de temps.

En els Grups B i C, als 10 minuts de la revascularització, s'observa una pèrdua cel.lular parcial a les puntes de les vellositats en algunes mostres.

Posteriorment, després del isotrasplantament intestinal (Grup B), el grau d'afectació reflexat en les puntuacions obtingudes també mostra valors amb tendència a un augment progressiu degut sobretot a alteracions a la morfologia de les vellositats, però en aquest cas, la seva forma tendeix a ser allargada i estreta. Les

criptes presenten una certa dilatació.

En el Grup C o d'alotrasplantament, el grau d'afectació adquireix els valors més alts, mostrant-se les vellositats curtes i amples a les primeres fases i més estretes i llargues al final, amb denudació parcial de l'epiteli i fent-se difícil observar la presència de mitosis a les criptes.

En els grups B i C, l'aplicació del contrast de Scheffé mostra diferències estadísticament significatives amb el budell normal en quasi tots els períodes de temps, però sense variacions importants entre un i altre d'aquests intervals.

**UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI  
FACULTAT DE MEDICINA I CIÈNCIES DE LA SALUT  
DEPARTAMENT DE MEDICINA I CIRURGIA  
UNITAT DE CIRURGIA**

**ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL  
DEL TRASPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL**

**TESI DOCTORAL  
MERCÈ HERNÁNDEZ I GONZÁLEZ**

**REUS, 1994**

#### 4.5.2.2. Valor de la puntuació a la zona profunda

El grau d'afectació de la zona profunda de la mucosa intestinal (làmina pròpia i muscularis mucosae) es mostra en forma de mitjanes i dispersions típiques a les TAULES 40, 41 i 42 i es representa a la GRAFICA 6.

	10 minuts	7 dies	14 dies	21 dies	36 dies
Alteració làmina pròpia	---	0.54 ± 0.45	0.40 ± 0.37	0.10 ± 0.14	0.04 ± 0.08
Alteració muscularis mucosae	---	0.46 ± 0.50	0.00 ± 0.00	0.40 ± 0.54	0.00 ± 0.00
Puntuació zona profunda	---	1.00 ± 0.95	0.40 ± 0.37	0.50 ± 0.46	0.40 ± 0.08

TAULA 40: GRUP A: ALTERACIONS MORFOLÒGIQUES OBSERVADES A LA ZONA PROFUNDA DE LA MUCOSA INTESTINAL DELS ANIMALS PORTADORS DE NANSA DE THIRY-VELLA

	10 minuts	7 dies	14 dies	21 dies	36 dies
Alteració làmina pròpia	0.30 ± 0.27	0.76 ± 0.25	0.00 ± 0.00	0.38 ± 0.21	0.46 ± 0.28
Alteració muscularis mucosae	0.00 ± 0.00	0.40 ± 0.41	0.00 ± 0.00	0.10 ± 0.22	0.00 ± 0.00
Puntuació zona profunda	0.30 ± 0.27	1.16 ± 0.65	0.00 ± 0.00	0.48 ± 0.42	0.46 ± 0.28

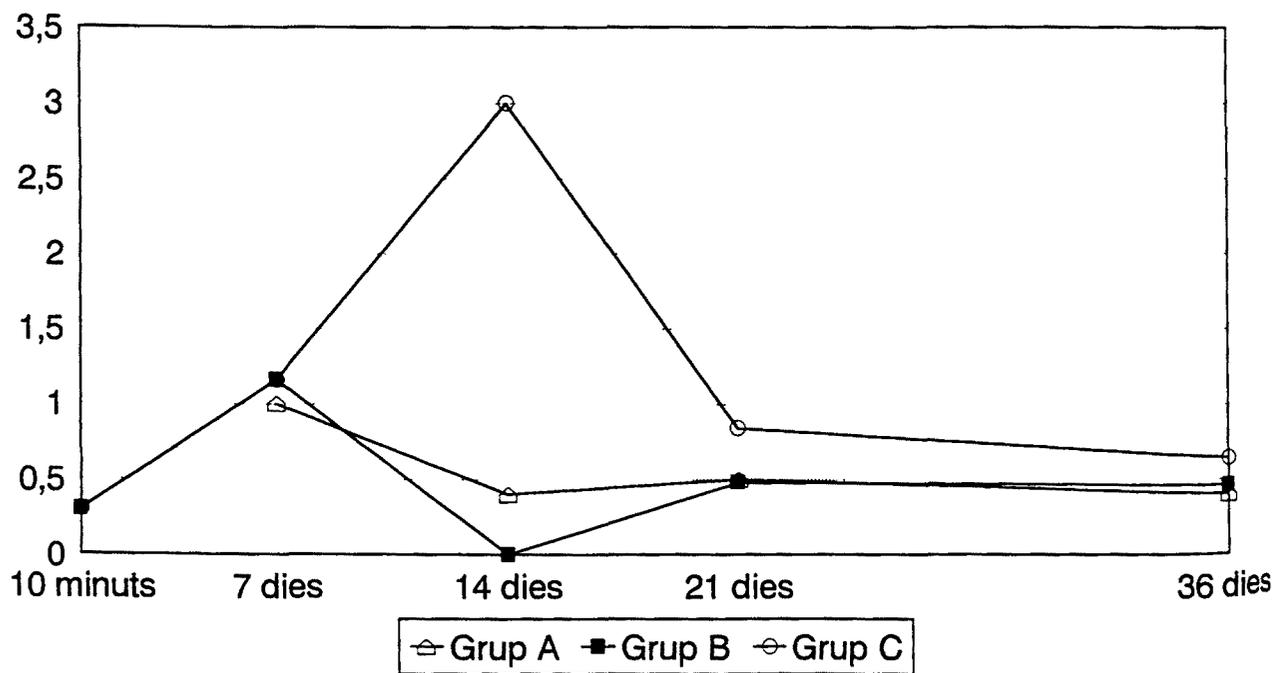
TAULA 41: GRUP B: ALTERACIONS MORFOLÒGIQUES OBSERVADES A LA ZONA PROFUNDA DE LA MUCOSA DEL BUDELL PRIM ISOTRASPLANTAT (LEW→LEW)

	10 minuts	7 dies	14 dies	21 dies	36 dies
Alteració làmina pròpia	0.30 ± 0.27	0.86 ± 0.21	2.00 ± 0.81	0.52 ± 0.35	0.44 ± 0.26
Alteració muscularis mucosae	0.00 ± 0.00	0.30 ± 0.44	1.00 ± 0.00	0.32 ± 0.43	0.20 ± 0.44
Puntuació zona profunda	0.30 ± 0.27	1.16 ± 0.35	3.00 ± 0.81	0.84 ± 0.58	0.64 ± 0.21

TAULA 42: GRUP C: ALTERACIONS MORFOLÒGIQUES OBSERVADES A LA ZONA PROFUNDA DE LA MUCOSA DEL BUDELL PRIM ALOTRASPLANTAT (LBN→LEW)

**GRAFICA 6**

**PUNTUACIO ZONA PROFUNDA**



L'aplicació de l'anàlisi de varianza per a valorar la influència del factor temps sobre les alteracions globals de la micromorfologia de la zona profunda de la mucosa intestinal en els tres models experimentals, ha detectat la presència de diferències estadísticament significatives, les quals han estat localitzades mitjançant la prova de Scheffé tot mostrant els resultats assenyalats a les TAULES 43, 44 i 45.

0				
NS	7d			
NS	NS	14d		
NS	NS	NS	21d	
NS	NS	NS	NS	35d

TAULA 43: GRUP A

0					
NS	10'				
*	*	7d			
NS	NS	*	14d		
NS	NS	NS	NS	21d	
NS	NS	NS	NS	NS	35d

TAULA 44: GRUP B

0					
NS	10'				
*	NS	7d			
*	*	*	14d		
NS	NS	NS	*	21d	
NS	NS	NS	*	NS	36d

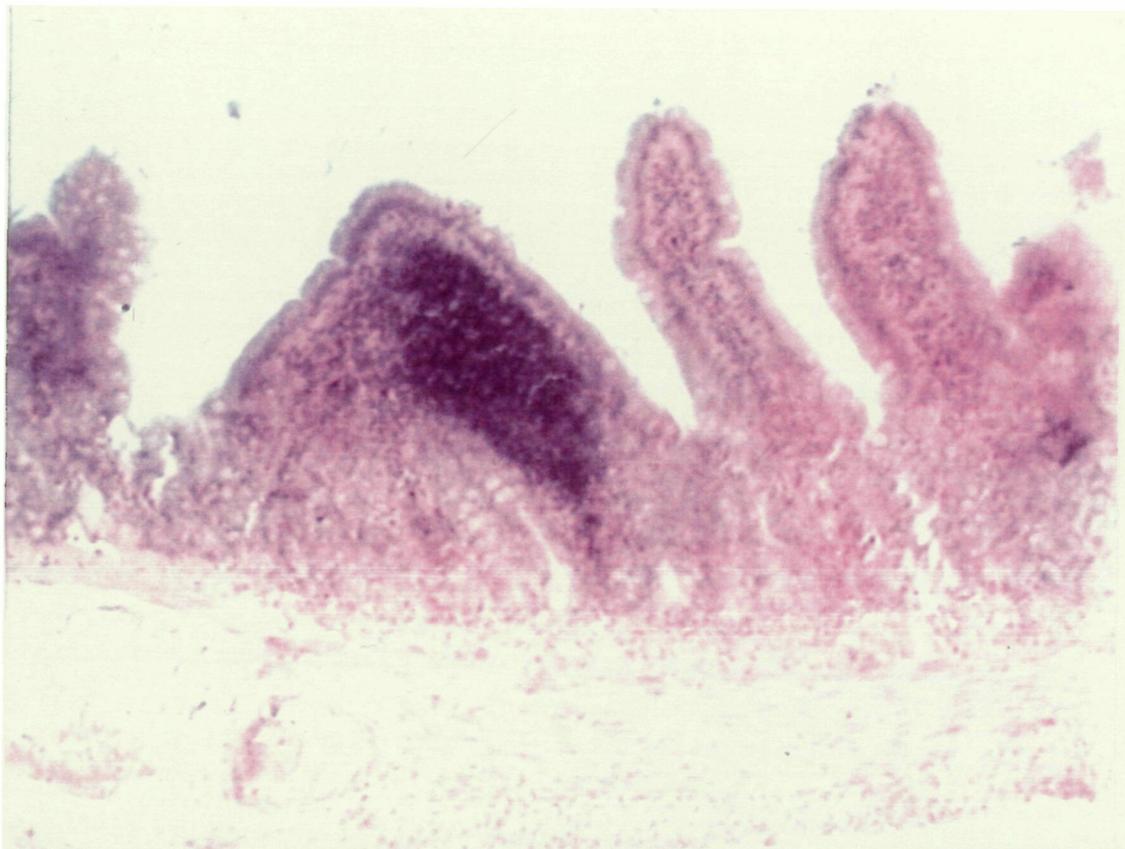
TAULA 45: GRUP C

En el Grup A, es produeix una afectació mínima en forma d'estasi vascular a la làmina pròpia als 7 i 14 dies, sense apreciar-se alteracions a la muscularis mucosae (FIGURA 35), i sense detectar-se diferències estadísticament significatives als diferents intervals de temps.

En els Grups B i C, destaca als 10 minuts de la revascularització, la presència d'edema a la làmina pròpia, el qual ja no es apreciable posteriorment, tot mostrant-se un cert aprimament d'aquesta capa en els períodes posteriors. Tanmateix pot observar-se dilatació dels vasos limfàtics a les vellositats fins els 7 dies postrasplantament (FIGURA 36).

En el Grup C, després del alotrasplantament intestinal, la mucosa presenta infiltrats cel.lulars a la làmina pròpia i en algun cas pot observar-se un cert engruiximent de la muscularis mucosae.





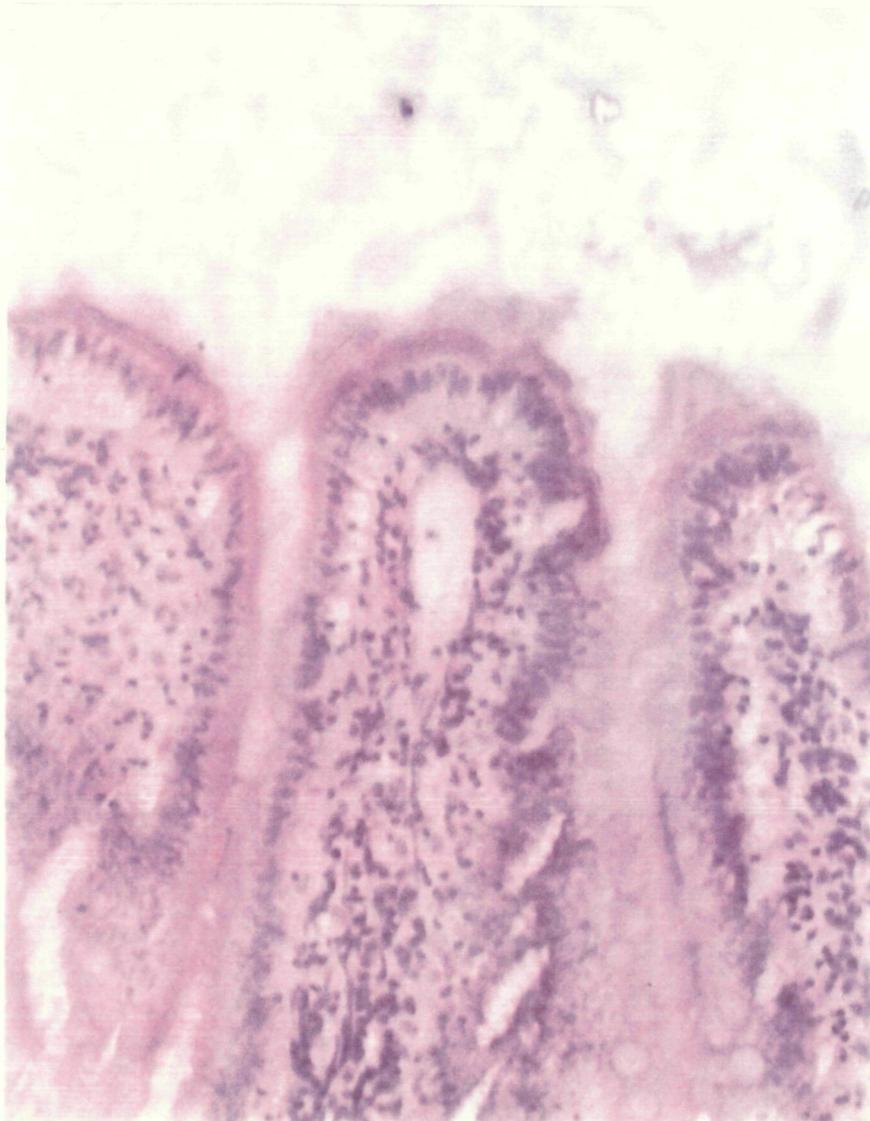
**FIGURA 35: ESTASI VASCULAR**

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL

Mercè Hernández i González

ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010



**FIGURA 36: DILATACIO DELS VASOS LIMFATICS A LES VELLOSIATATS**

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI  
ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL  
Mercè Hernández i González  
ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010

### 4.5.3. COMPARACIÓ DE LES CARACTERÍSTIQUES MORFOLÒGIQUES ENTRE ELS GRUPS

Per tal de valorar la presència de graus diferents d'alteracions micromorfològiques relacionades amb els efectes dels diferents models experimentals emprats, s'han comparat els valors de les puntuacions corresponents a les característiques que mostra cada grup per a un mateix interval de temps. Mitjançant l'anàlisi de varianza, s'han detectat diferències estadísticament significatives ( $p \geq 0.05$ ), les quals han estat localitzades tot aplicant la prova de contrast de Scheffé. Les dades obtingudes en relació a la puntuació de la superfície intraluminal es mostren de la TAULA 46 a la 50 i les relatives a la puntuació de la zona profunda s'assenyalen a les TAULES 51 a la 55.

#### COMPARACIÓ DE MITJANES I GRAU DE SIGNIFICACIÓ ENTRE LES PUNTUACIONS OBTINGUDES A LA SUPERFÍCIE INTRALUMINAL A DIFERENTS INTERVALS DE TEMPS

NS=No Significatiu \*  $p < 0.05$

A		
-	B	
-	NS	C

TAULA 46:  
10 minuts

A		
*	B	
*	NS	C

TAULA 47:  
7 dies

A		
NS	B	
NS	*	C

TAULA 48:  
14 dies

A		
NS	B	
NS	NS	C

TAULA 49:  
21 dies

A		
NS	B	
NS	NS	C

TAULA 50:  
36 dies

#### COMPARACIÓ DE MITJANES I GRAU DE SIGNIFICACIÓ ENTRE LES PUNTUACIONS OBTINGUDES A LA ZONA PROFUNDA A DIFERENTS INTERVALS DE TEMPS

NS=No Significatiu \*  $p < 0.05$

A		
-	B	
-	NS	C

TAULA 51:  
10 minuts

A		
NS	B	
NS	NS	C

TAULA 52:  
7 dies

A		
NS	B	
*	*	C

TAULA 53:  
14 dies

A		
NS	B	
NS	NS	C

TAULA 54:  
21 dies

A		
*	B	
*	NS	C

TAULA 55:  
36 dies

#### **4.5.3.1. Període postreperfusió (10 minuts)**

L'afectació postreperfusió no mostra diferències estadísticament significatives entre els dos grups de trasplantament, ni a la superfície intraluminal ni a la zona profunda.

#### **4.5.3.2. Als 7 dies**

S'observen diferències estadísticament significatives en el grau d'afectació de la superfície intraluminal entre el grup control en nansa de Thiry-Vella i els grups de trasplantament. Quant a la zona profunda, no es detecten diferències estadísticament significatives entre els tres grups.

#### **4.5.3.3. Als 14 dies**

A la superfície intraluminal s'observen diferències estadísticament significatives entre els dos grups de trasplantament, però no en relació al grup en nansa de Thiry-Vella.

A la zona profunda es produeixen alteracions amb diferències estadísticament significatives entre els dos grups de trasplantament i entre el grup d'alotrasplantament i el grup control.

#### **4.5.3.4. Als 21 dies**

No es detecten diferències estadísticament significatives en el grau d'afectació de la micromorfologia entre els tres grups.

#### **4.5.3.5. Als 35 dies**

A la superfície intraluminal no s'observen diferències estadísticament significatives entre els tres grups.

La zona profunda presenta graus d'afectació amb diferències estadísticament significatives entre el grup control i els dos grups de trasplantament.

## **4.6. DETERMINACIONS MORFOMETRIQUES**

### **4.6.1. HOMOGENEITAT DE LES DADES**

Amb l'aplicació del test d'independència, s'ha comprovat que tots els valors de cada sèrie compleixen els criteris d'homogeneïtat ( $p \geq 0.05$ ) i, per tant, poden ser utilitzats per a la inferència estadística.

En avaluar la homogeneïtat de variàncies, aquesta condició s'ha complert en els valors de les sèries de cada grup ( $p \geq 0.05$ ,  $F^{\max}_{3,5-1,0.05} \leq 15.5$ ).

### **4.6.2. VARIACIONS OBSERVADES PER A CADA GRUP EN EL TEMPS**

S'han obtingut els valors dels paràmetres següents:

- Alçada de les vellositats
- Amplada de les vellositats
- Superfície absorbent per vellositat
- Diàmetre
- Percentatge d'escurçament del segment intestinal
- Superfície epitelial o àrea absorbent epitelial

Aquestes determinacions es mostren en forma de mitjanes i dispersions típiques a les TAULES 56 a 61 i la seva evolució queda representada a les GRAFIQUES 7 a 12.

	Temps 0	10 minuts	7 dies	14 dies	21 dies	36 dies
<b>GRUP A (Thiry-Vella)</b>	338.06 ±40.58	----	316.31 ±34.69	238.76 ±24.93	293.90 ±56.48	324.12 ±52.52
<b>GRUP B (Isotrasplantament)</b>	338.06 ±40.58	392.53 ±27.27	336.55 ±38.13	306.61 ±15.60	292.82 ±65.98	439.44 ±49.08
<b>GRUP C (Alotrasplantament)</b>	338.06 ±40.58	392.53 ±27.27	387.98 ±44.68	310.47 ±35.79	388.22 ±36.90	310.97 ±46.21

**TAULA 56: ALÇADA DE LES VELLOSTATS ( $\mu$ )**

	Temps 0	10 minuts	7 dies	14 dies	21 dies	36 dies
<b>GRUP A (Thiry-Vella)</b>	96.10 ±15.85	----	141.72 ±20.12	114.67 ±13.18	146.18 ±25.81	171.78 ±11.07
<b>GRUP B (Isotrasplantament)</b>	96.10 ±15.85	124.03 ±16.54	130.63 ±09.24	151.24 ±18.57	129.81 ±21.67	104.78 ±15.80
<b>GRUP C (Alotrasplantament)</b>	96.10 ±15.85	124.03 ±16.54	137.86 ±27.47	105.35 ±18.07	131.69 ±17.12	102.27 ±19.67

**TAULA 57: AMPLADA DE LES VELLOSTATS ( $\mu$ )**

	Temps 0	10 minuts	7 dies	14 dies	21 dies	36 dies
<b>GRUP A (Thiry-Vella)</b>	773.97 ±92.25	----	751.99 ±84.55	573.47 ±51.86	660.26 ±103.50	810.58 ±76.96
<b>GRUP B (Isotrasplantament)</b>	773.97 ±92.25	954.51 ±35.97	793.71 ±85.56	698.79 ±49.31	710.04 ±102.22	962.49 ±105.90
<b>GRUP C (Alotrasplantament)</b>	773.97 ±92.25	954.51 ±35.97	831.28 ±104.13	671.11 ±74.56	910.10 ±103.99	713.17 ±81.50

**TAULA 58: SUPERFICIE ABSORTIVA PER VELLOSTAT ( $\mu$ )**

	Temps 0	10 minuts	7 dies	14 dies	21 dies	36 dies
<b>GRUP A</b> (Thiry-Vella)	2073.00 ± 416.45	----	2356.00 ± 123.41	2689.60 ± 202.04	3577.00 ± 218.21	3851.65 ± 503.59
<b>GRUP B</b> (Isotrasplantament)	2073.00 ± 416.45	2536.00 ± 402.94	2528.80 ± 470.60	2060.80 ± 130.64	1844.00 ± 239.64	2357.60 ± 241.33
<b>GRUP C</b> (Alotrasplantament)	2073.00 ± 416.45	2536.00 ± 402.94	2355.20 ± 291.27	1408.00 ± 336.91	2251.20 ± 358.36	2403.20 ± 679.12

TAULA 59: DIAMETRE ( $\mu$ )

	Temps 0	10 minuts	7 dies	14 dies	21 dies	36 dies
<b>GRUP A</b> (Thiry-Vella)	----	----	17.58 ± 2.42	18.28 ± 5.58	28.25 ± 2.33	36.28 ± 2.60
<b>GRUP B</b> (Isotrasplantament)	----	0.00	17.45 ± 3.99	19.35 ± 4.35	19.75 ± 2.46	31.10 ± 3.11
<b>GRUP C</b> (Alotrasplantament)	----	0.00	17.75 ± 3.32	20.15 ± 7.98	20.69 ± 4.52	32.31 ± 4.97

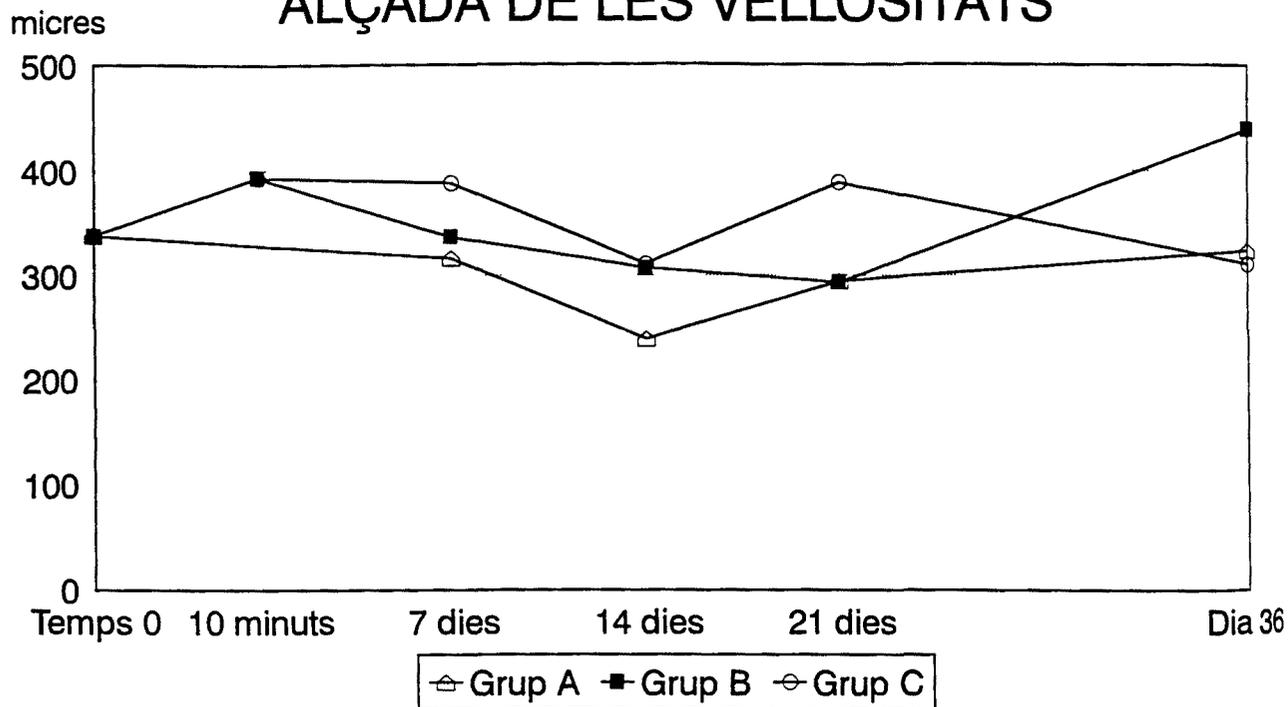
TAULA 60: PERCENTATGE D'ESCURÇAMENT DEL SEGMENT INTESTINAL

	Temps 0	10 minuts	7 dies	14 dies	21 dies	36 dies
<b>GRUP A</b> (Thiry-Vella)	44.44 ± 14.59	----	23.99 ± 3.42	29.56 ± 6.03	35.80 ± 8.82	32.68 ± 6.21
<b>GRUP B</b> (Isotrasplantament)	44.44 ± 14.59	44.99 ± 9.74	33.49 ± 15.87	19.05 ± 3.21	22.82 ± 9.22	39.07 ± 12.25
<b>GRUP C</b> (Alotrasplantament)	44.44 ± 14.59	44.99 ± 9.74	34.48 ± 11.31	14.83 ± 2.49	25.82 ± 10.06	30.25 ± 4.09

TAULA 61: AREA O SUPERFICIE ABSORTIVA EPITELIAL (cm<sup>2</sup>)

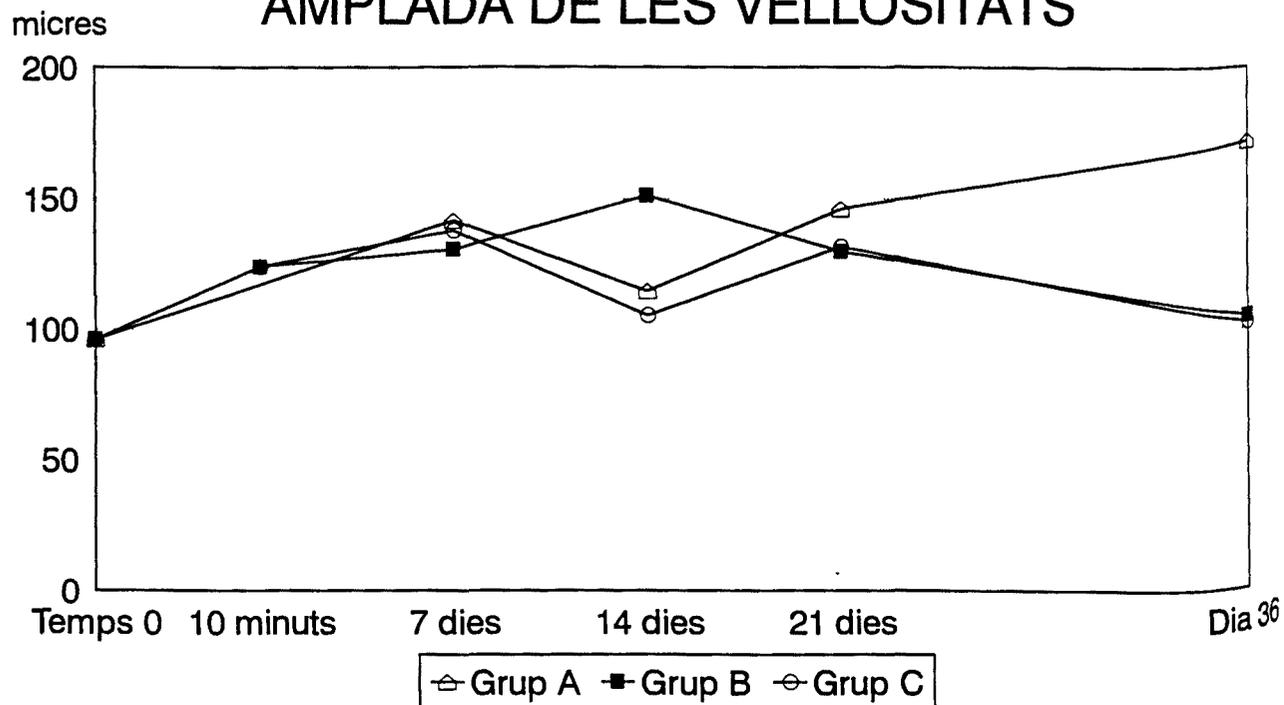
**GRAFICA 7**

### ALÇADA DE LES VELLOSITATS

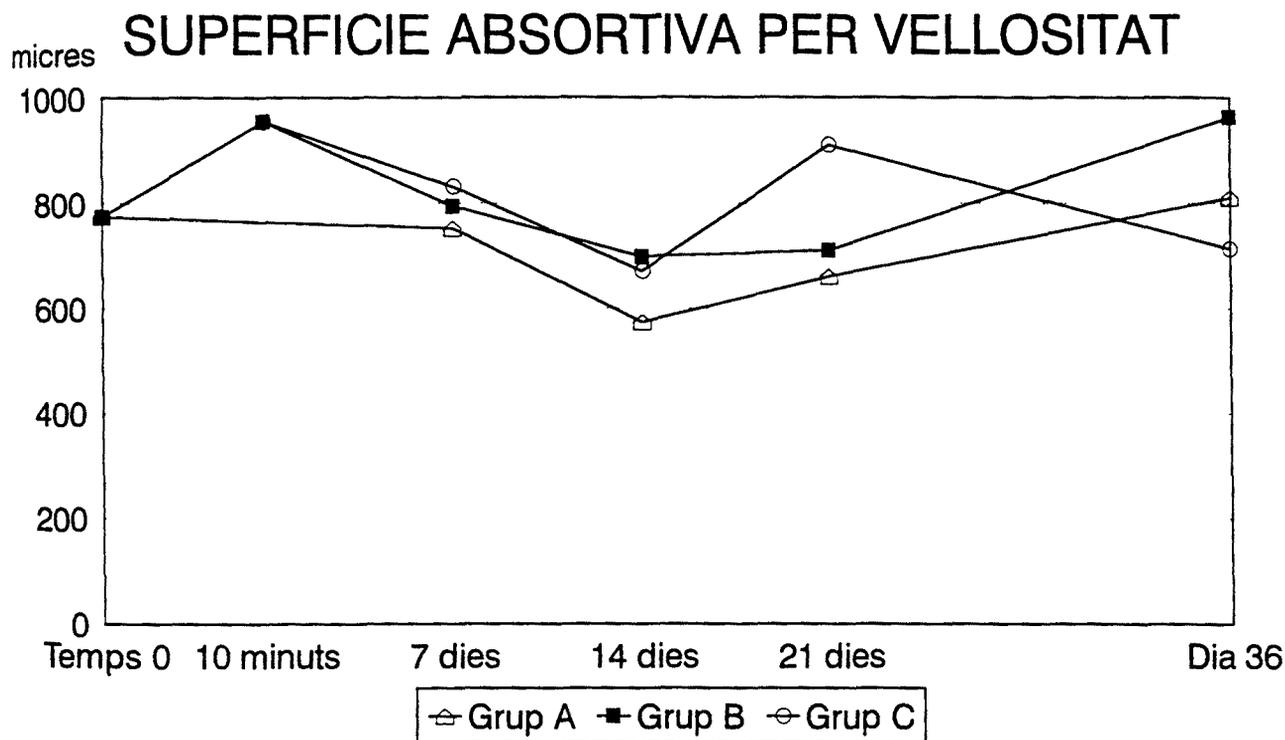


**GRAFICA 8**

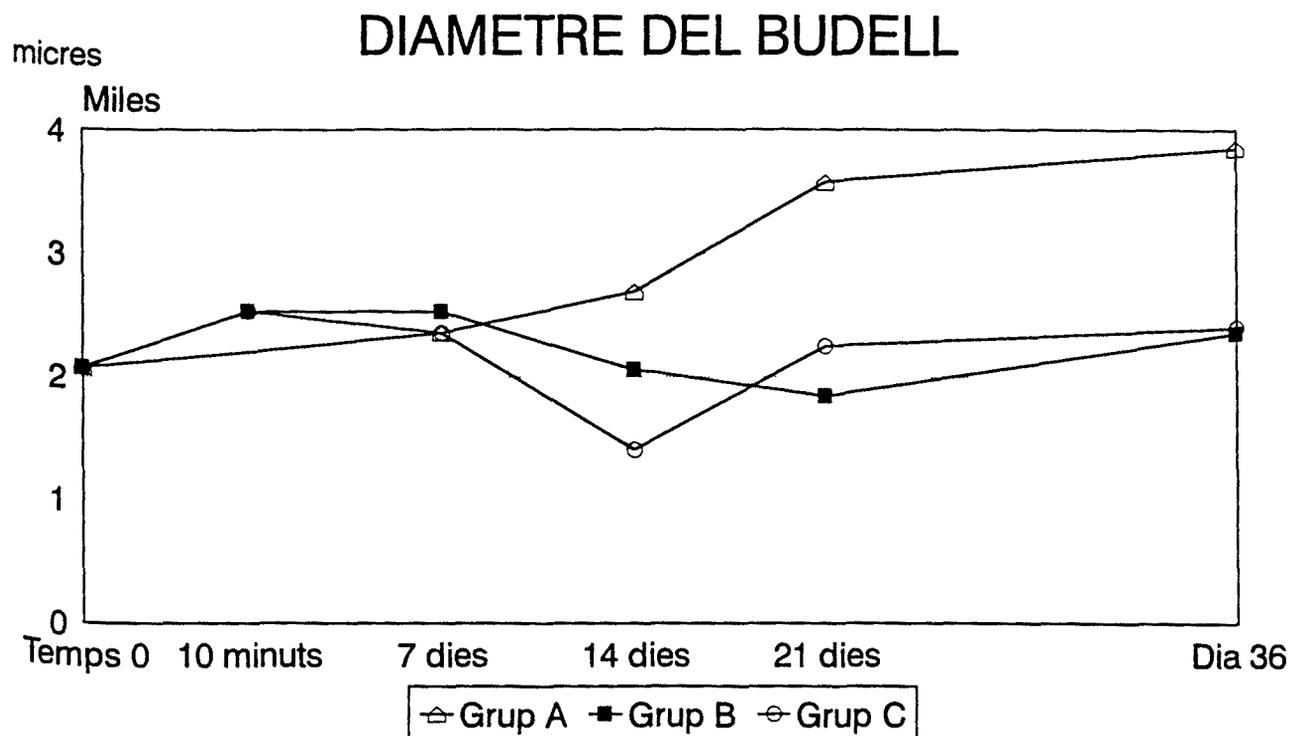
### AMPLADA DE LES VELLOSITATS



**GRAFICA 9**

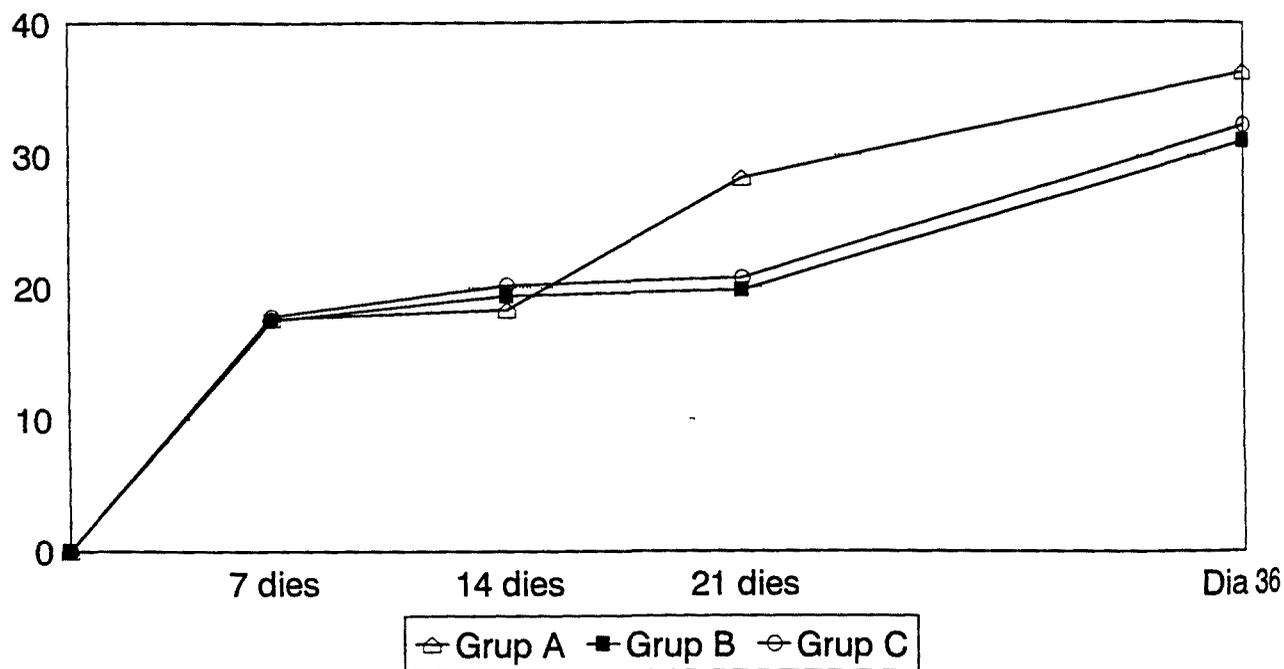


**GRAFICA 10**



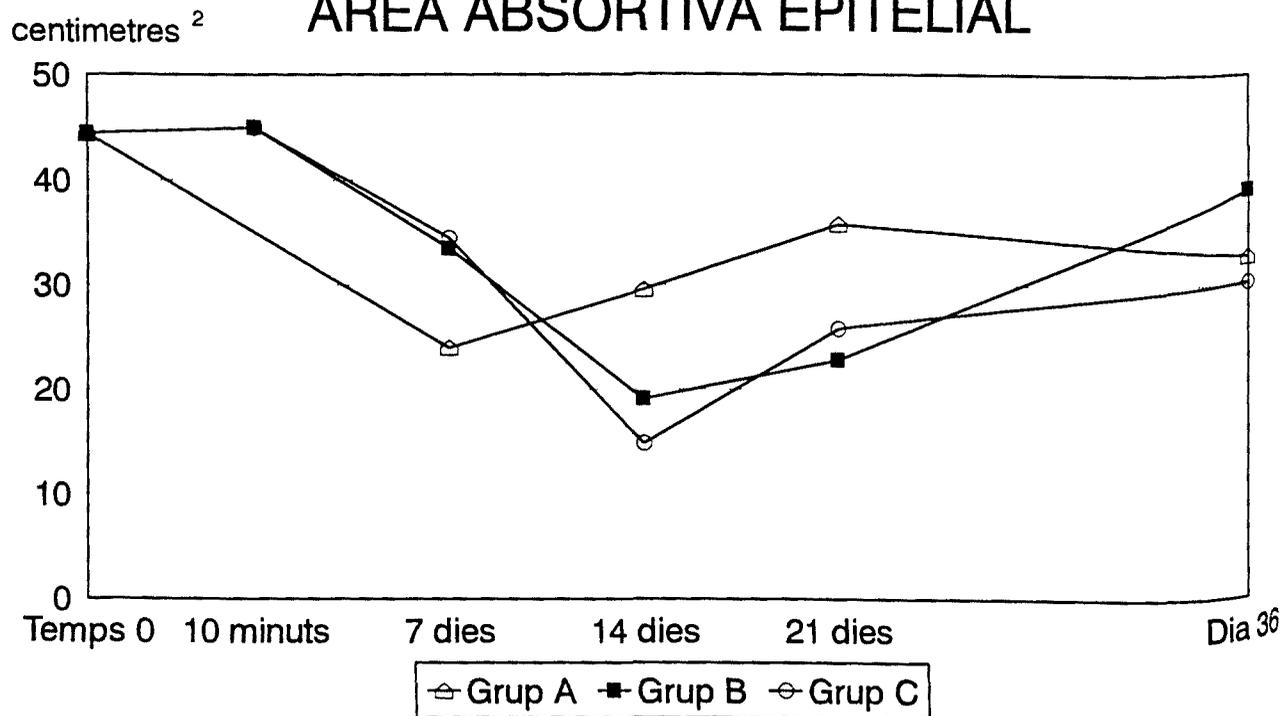
**GRAFICA 11**

## PERCENTATGE D'ESCURÇAMENT



**GRAFICA 12**

## AREA ABSORTIVA EPITELIAL



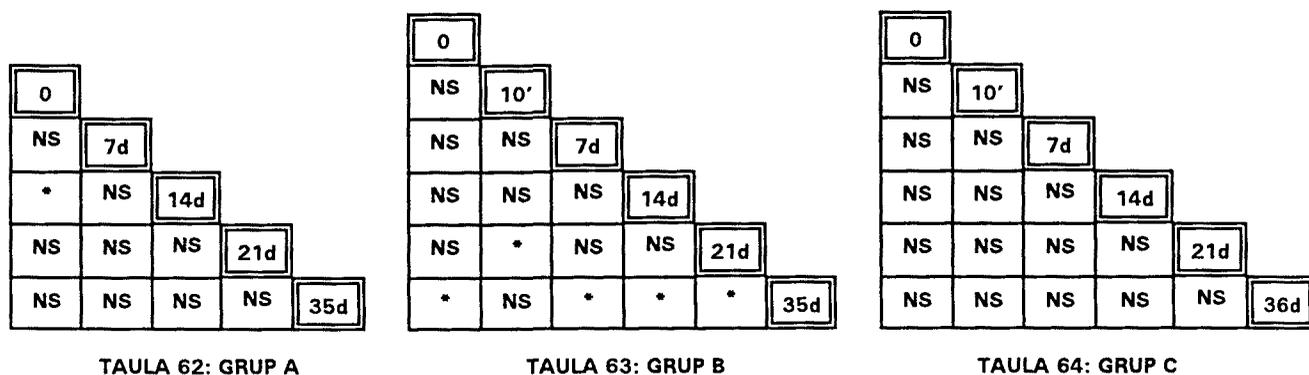
#### 4.6.2.1. Alçada de les vellositats

Com pot observar-se a la TAULA 56 i la GRAFICA 7, les vellositats de la mucosa del budell prim disposat en nansa de Thiry-Vella presenten una certa tendència a l'escurçament de la qual es recuperen una vegada realitzada la interposició ortotòpica del budell.

L'aplicació de l'anàlisi de variàncies en la comparació de les mitjanes obtingudes per tal de valorar variacions en l'alçada de les vellositats en relació al temps d'evolució (TAULA 62), ha evidenciat la presència de diferències estadísticament significatives en les mostres del Grup A ( $p \leq 0.05$ ). Mitjançant la prova de Scheffé, s'ha detectat que aquestes diferències es donen entre el budell normal i el budell exclòs durant 14 dies, moment en el qual l'alçada presenta una reducció d'unes  $100\mu$  respecte als valors inicials. No han estat observades altres diferències estadísticament significatives en l'alçada vellositària en relació al temps.

En les mostres procedents del budell prim isotrasplantat (Grup B), s'ha observat una progressiva reducció en l'alçada vellositària fins el dia 21 (TAULA 56, GRAFICA 7), amb un increment important després de col·locar el budell trasplantat en continuïtat amb el trànsit digestiu. Posteriorment a la interposició ortotòpica, les determinacions obtingudes als 35 dies presenten diferències estadísticament significatives respecte als intervals de temps previs, tot evidenciant que el trànsit digestiu pot influir sobre l'increment observat en l'alçada de les vellositats (TAULA 63).

En la mucosa del budell prim alotrasplantat (Grup C), les vellositats presenten oscil·lacions en la seva alçada durant el període de temps estudiat (TAULA 56, GRAFICA 7), però es mantenen en uns valors que no mostren en cap moment diferències estadísticament significatives (TAULA 64).



#### 4.6.2.2. Amplada de les vellositats

En el Grup A, les vellositats del budell prim en nansa de Thiry-Vella presenten una tendència inicial a l'eixamplament (TAULA 57, GRAFICA 8), tot mostrant diferències estadísticament significatives respecte al budell normal als 7 dies de la derivació (TAULA 65). Posteriorment, les determinacions als 14 i 21 dies mostren variacions en l'amplada vellositària sense diferències estadísticament significatives entre aquests intervals de temps, però sí entre els valors obtinguts als 21 dies i els inicials. Després de la interposició ortotòpica, l'amplada vellositària també mostra variacions estadísticament significatives respecte als valors inicials, però no es pot pensar en l'efecte d'aquesta reintervenció sobre tal fet al no observar-se diferències estadísticament significatives respecte a l'interval previ (21 dies).

En el Grup B o d'isotrasplantament, es dóna una tendència inicial a l'eixamplament fins als 14 dies (TAULA 57, GRAFICA 8), moment en el qual la variació mostra diferències estadísticament significatives en relació a la mostra de budell normal (TAULA 66). Posteriorment, als 21 i 35 dies les determinacions presenten oscil·lacions les quals només són estadísticament significatives entre els 36 i 14 dies, sense relacions evidents amb la interposició ortotòpica.

En el Grup C o d'alotrasplantament LBN→LEW, l'amplada de les vellositats presenta unes oscil·lacions en el temps (TAULA 57, GRAFICA 8), però sense mostrar en cap moment diferències estadísticament significatives (TAULA 67).

0				
*	7d			
NS	NS	14d		
*	NS	NS	21d	
*	NS	*	NS	35d

TAULA 65: GRUP A

0					
NS	10'				
NS	NS	7d			
*	NS	NS	14d		
NS	NS	NS	NS	21d	
NS	NS	NS	*	NS	35d

TAULA 66: GRUP B

0					
NS	10'				
NS	NS	7d			
NS	NS	NS	14d		
NS	NS	NS	NS	21d	
NS	NS	NS	NS	NS	36d

TAULA 67: GRUP C

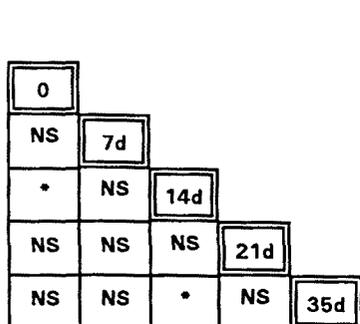
#### 4.6.2.3. Superfície absorbiva per vellositat

La determinació del tamany de la superfície intraluminal de les vellositats del budell prim disposat en forma de nansa de Thiry-Vella evidència una tendència inicial a la reducció fins als 14 dies (TAULA 58, GRAFICA 9), seguida d'un augment progressiu fins al final de l'estudi. En relació al temps d'evolució, l'anàlisi de variàncies i el contrast de Scheffé (TAULA 68) mostren diferències estadísticament significatives respecte al budell normal als 14 dies, on els valors de la superfície absorbiva per vellositat adquireixen els valors més inferiors. Tanmateix, el mateix fet fa que s'estableixin diferències estadísticament significatives amb la determinació corresponent als 36 dies, on el tamany és màxim després de la interposició ortotòpica.

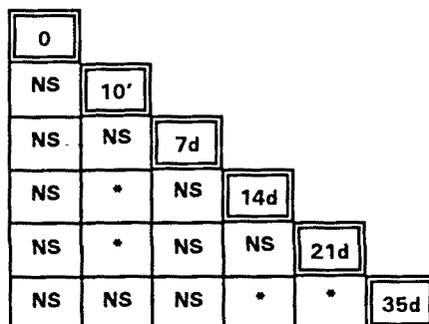
En el budell iso i alotrasplantat, s'observa als 10 minuts de la reperfusió un augment del tamany, el qual no presenta diferències estadísticament significatives respecte a determinacions posteriors (TAULES 69 i 70).

Aquest augment inicial ve seguit d'una tendència a la reducció fins als 14 dies (TAULA 58, GRAFICA 9) la qual es dóna de forma similar en els dos tipus de trasplantament. En canvi, les determinacions posteriors mostren un comportament diferent. Mentre als 21 dies el budell isotrasplantat presenta un increment moderat del tamany de la superfície intraluminal de les vellositats, el budell alotrasplantat el presenta d'una forma més accentuada. Posteriorment a la interposició ortotòpica, el budell isotrasplantat continua amb la seva tendència a l'increment, mentre que el

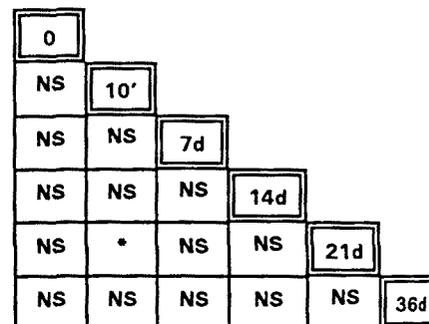
budell allotrasplantat mostra una reducció dels valors de la superfície mitjana per vellositat els quals arriben a ser similars als del budell normal.



TAULA 68: GRUP A



TAULA 69: GRUP B



TAULA 70: GRUP C

#### 4.6.2.4. Diàmetre

Quan el budell prim es disposat en forma de nansa de Thiry-Vella (Grup A) el seu diàmetre mostra una tendència progressiva a l'augment (TAULA 59, GRAFICA 10), i les determinacions obtingudes mostren diferències estadísticament significatives respecte als valors inicials als 21 dies de la intervenció (TAULA 71).

Als 36 dies, la mesura del diàmetre continua augmentant en forma estadísticament significativa respecte al valors inicials i als intervals de 7 i 14 dies, sense poder-se observar cap relació amb la interposició ortotòpica d'aquest budell exclós, en no ser estadísticament significatives les diferències que es donen entre els intervals de 21 i 36 dies.

En els grups B i C (TAULA 59, GRAFICA 10), el diàmetre del budell trasplantat ha presentat variacions les quals no han estat estadísticament significatives en cap interval de temps pel que fa al budell isotrasplantat (TAULA 72) i, en el budell allotrasplantat, només ho han estat entre els 10 minuts de la revascularització i els 14 dies post-trasplantament, moment en el qual el diàmetre ha mostrat els valors més inferiors (TAULA 73).

0				
NS	7d			
NS	NS	14d		
*	*	*	21d	
*	*	*	NS	35d

TAULA 71: GRUP A

0					
NS	10'				
NS	NS	7d			
NS	NS	NS	14d		
NS	NS	NS	NS	21d	
NS	NS	NS	NS	NS	35d

TAULA 72: GRUP B

0					
NS	10'				
NS	NS	7d			
NS	*	NS	14d		
NS	NS	NS	NS	21d	
NS	NS	NS	NS	NS	36d

TAULA 73: GRUP C

#### 4.6.2.5. Percentatge d'escurçament del segment intestinal

En mesurar les longituds inicial i final del segment intestinal trasplantat, es va observar una clara tendència a l'escurçament, la qual va ser registrada en forma de percentatge de pèrdua de longitud respecte als valors inicials. Les determinacions d'aquest percentatge expressades en forma de mitjanes i dispersions típiques es mostren a la TAULA 60 i es representen a la GRAFICA 11.

En els tres grups d'animals, es produeix un escurçament del segment intestinal el percentatge del qual es mostra màxim als 36 dies, amb diferències estadísticament significatives respecte a tots els intervals de temps anteriors (TAULES 74, 75 i 76).

0				
*	7d			
*	NS	14d		
*	*	*	21d	
*	*	*	*	35d

TAULA 74: GRUP A

0					
NS	10'				
*	*	7d			
*	*	NS	14d		
*	*	NS	NS	21d	
*	*	*	*	*	35d

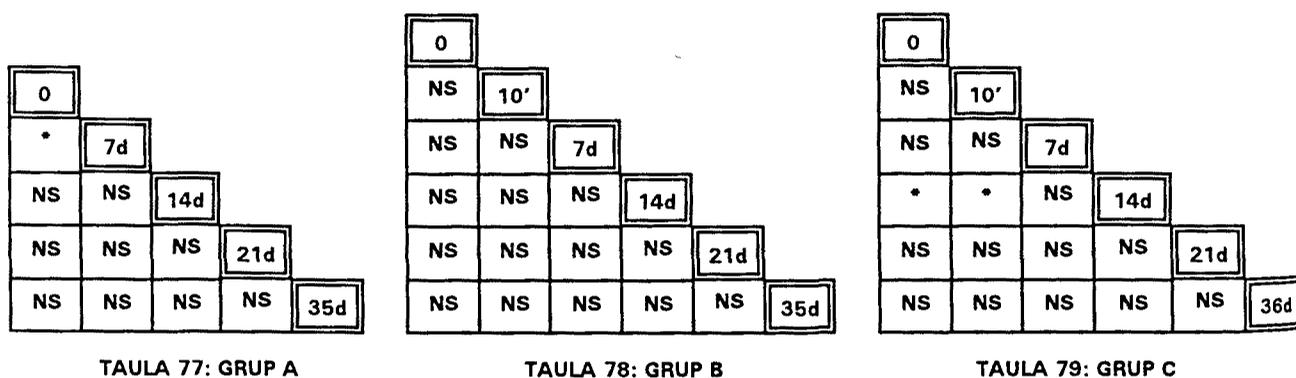
TAULA 75: GRUP B

0					
NS	10'				
*	*	7d			
*	*	NS	14d		
*	*	NS	NS	21d	
*	*	*	*	*	36d

TAULA 76: GRUP C

#### 4.6.2.6. Area o superfície absorbent epitelial

En els tres grups d'animals, el tamany de l'àrea absorbent de la mucosa intestinal ha presentat una tendència inicial cap a la reducció respecte als valors inicials (TAULA 61, GRAFICA 12). Aquesta disminució del tamany es màxima als 7 dies per al Grup A i als 14 dies per als dos grups de trasplantament. La manca de diferències estadísticament significatives entre els valors fins als 21 dies i els valors obtinguts als 35 dies mostra la manca d'influència de la interposició ortotòpica sobre l'evolució del tamany de l'àrea absorbent intestinal (TAULES 77, 78 i 79).



### 4.6.3. COMPARACIÓ DE LES DETERMINACIONS OBSERVADES ENTRE ELS GRUPS

Per tal de valorar la influència del trasplantament intestinal sobre els paràmetres analitzats així com per a establir comparacions amb el model control en nansa de Thiry-Vella, han estat comparades les mitjanes procedents de cadascun dels grups per a un mateix interval de temps. Els resultats obtinguts s'assenyalen a les TAULES 80 a 109.

#### COMPARACIÓ DE MITJANES I GRAU DE SIGNIFICACIÓ ENTRE ELS VALORS DE L'ALÇADA VELLOSIÀRIA A DIFERENTS INTERVALS DE TEMPS

NS=No Significatiu \*  $p < 0.05$

A		
-	B	
-	NS	C

TAULA 80:  
10 minuts

A		
NS	B	
*	NS	C

TAULA 81:  
7 dies

A		
*	B	
*	NS	C

TAULA 82:  
14 dies

A		
NS	B	
NS	NS	C

TAULA 83:  
21 dies

A		
*	B	
NS	*	C

TAULA 84:  
36 dies

#### COMPARACIÓ DE MITJANES I GRAU DE SIGNIFICACIÓ ENTRE ELS VALORS DE L'AMPLADA VELLOSIÀRIA A DIFERENTS INTERVALS DE TEMPS

NS=No Significatiu \*  $p < 0.05$

A		
-	B	
-	NS	C

TAULA 85:  
10 minuts

A		
NS	B	
NS	NS	C

TAULA 86:  
7 dies

A		
*	B	
NS	*	C

TAULA 87:  
14 dies

A		
NS	B	
NS	NS	C

TAULA 88:  
21 dies

A		
*	B	
*	NS	C

TAULA 89:  
36 dies

**COMPARACIÓ DE MITJANES I GRAU DE SIGNIFICACIÓ ENTRE ELS VALORS DE LA SUPERFÍCIE ABSORTIVA PER VELLOSIAT A DIFERENTS INTERVALS DE TEMPS**

NS=No Significatiu \* p<0.05

A		
-	B	
-	NS	C

**TAULA 90:**  
10 minuts

A		
NS	B	
NS	NS	C

**TAULA 91:**  
7 dies

A		
*	B	
NS	NS	C

**TAULA 92:**  
14 dies

A		
NS	B	
*	NS	C

**TAULA 93:**  
21 dies

A		
NS	B	
NS	*	C

**TAULA 94:**  
36 dies

**COMPARACIÓ DE MITJANES I GRAU DE SIGNIFICACIÓ ENTRE ELS VALORS DEL DIAMETRE INTESTINAL A DIFERENTS INTERVALS DE TEMPS**

NS=No Significatiu \* p<0.05

A		
-	B	
-	NS	C

**TAULA 95:**  
10 minuts

A		
NS	B	
NS	NS	C

**TAULA 96:**  
7 dies

A		
*	B	
*	*	C

**TAULA 97:**  
14 dies

A		
*	B	
*	NS	C

**TAULA 98:**  
21 dies

A		
*	B	
*	NS	C

**TAULA 99:**  
36 dies

**COMPARACIÓ DE MITJANES I GRAU DE SIGNIFICACIÓ ENTRE ELS VALORS DEL PERCENTATGE D'ESCURÇAMENT DEL SEGMENT INTESTINAL ALS DIFERENTS INTERVALS DE TEMPS**

NS=No Significatiu \* p<0.05

A		
-	B	
-	-	C

**TAULA 100:**  
10 minuts

A		
NS	B	
NS	NS	C

**TAULA 101:**  
7 dies

A		
NS	B	
NS	NS	C

**TAULA 102:**  
14 dies

A		
*	B	
*	NS	C

**TAULA 103:**  
21 dies

A		
NS	B	
NS	NS	C

**TAULA 104:**  
36 dies

**COMPARACIÓ DE MITJANES I GRAU DE SIGNIFICACIÓ ENTRE ELS VALORS DEL TAMANY DE L'ÀREA ABSORTIVA DE L'EPITELI INTESTINAL A DIFERENTS INTERVALS DE TEMPS**

NS=No Significatiu \* p<0.05

A		
-	B	
-	NS	C

**TAULA 105:**  
10 minuts

A		
NS	B	
NS	NS	C

**TAULA 106:**  
7 dies

A		
*	B	
*	NS	C

**TAULA 107:**  
14 dies

A		
NS	B	
NS	NS	C

**TAULA 108:**  
21 dies

A		
NS	B	
NS	NS	C

**TAULA 109:**  
36 dies

#### **4.6.3.1. Període postreperfusió (10 minuts)**

Després d'observar que no es produïen diferències estadísticament significatives entre els valors dels paràmetres analitzats en mostres corresponents al budell iso i alotrasplantat als 10 minuts de la seva revascularització, es va decidir de prendre com a valor d'aquest interval de temps a la mitjana de les determinacions obtingudes. D'aquesta manera, al considerar igual el valor en els grups B i C, no es produeixen diferències estadísticament significatives.

#### **4.6.3.2. Als 7 dies**

En aquest interval, només es detecten diferències estadísticament significatives en relació a l'alçada de les vellositats entre el grup A o nansa de Thiry-Vella i el budell alotrasplantat (TAULA 81).

#### **4.6.3.3. Als 14 dies**

L'alçada de les vellositats mostra variacions estadísticament significatives ( $p \leq 0.05$ ) entre el Grup control A i el budell iso i alotrasplantat, sense que s'observin diferències entre ambdues formes de trasplantament (TAULA 82).

Quant a l'amplada, es donen diferències estadísticament significatives entre el budell exclòs o del grup A i el budell isotrasplantat (TAULA 87). Tanmateix s'observen variacions significatives estadísticament entre les dues formes de trasplantament (Grups B i C).

La superfície absortiva mitjana per vellositat mostra diferències estadísticament significatives entre el budell control i el budell isotrasplantat donat que és en aquest període de temps on es registren els valors més baixos (TAULA 92).

En comparar les mitjanes de les determinacions del diàmetre del budell, s'observen diferències estadísticament significatives entre els tres grups, tot mostrant un comportament diferent d'aquest paràmetre als 14 dies en relació al model experimental aplicat (TAULA 97).

L'escurçament que pateix el budell prim no mostra diferències estadísticament significatives entre les dues formes de trasplantament ni en relació a la seva exclusió

del trànsit digestiu (TAULA 102).

El tamany de l'àrea d'absorció de la mucosa intestinal es mostra amb diferències estadísticament significatives quan es comparen el budell trasplantat i el budell exclós, però sense notar diferències importants entre les determinacions d'ambdues formes de trasplantament (TAULA 107).

#### **4.6.3.4. Als 21 dies**

En aquest període evolutiu, el trasplantament intestinal i la exclusió del budell prim ja no mostren variacions estadísticament significatives en l'alçada ni l'amplada de les vellositats, ni tampoc a l'àrea d'absorció (TAULES 83, 88 i 108).

Les diferències que es produeixen s'observen en el diàmetre i la longitud del segment intestinal entre el budell exclós i el budell trasplantat, sense detectar-se variacions entre les dues formes de trasplantament (TAULES 98 i 103).

Tanmateix s'observen diferències en el tamany de la superfície absorbent mitjana per vellositat entre el budell control i el budell alotrasplantat, el qual adquireix en aquest interval de temps els valors més alts (TAULA 93).

#### **4.6.3.5. Als 36 dies**

En el període final de l'estudi, als 15 dies d'haver col·locat el segment de budell prim en continuïtat amb el trànsit digestiu, s'observen diferències estadísticament significatives en l'alçada de les vellositats entre el budell procedent de la nansa de Thiry-Vella i el budell isotrasplantat, i també s'observen variacions entre les dues formes de trasplantament (TAULA 84).

Estadísticament, l'amplada de les vellositats mostra diferències entre el budell control i el budell trasplantat, sense donar-se variacions entre els dos tipus de trasplantament (TAULA 89). El mateix fet es produeix en relació al diàmetre del segment intestinal (TAULA 99).

## 4.7. DETERMINACIONS FUNCIONALS: ABSORCIO DE GLUCOSA I AIGUA

### 4.7.1. HOMOGENEITAT DE LES DADES

Amb l'aplicació del test d'independència, s'ha comprovat que tots els valors de cada sèrie compleixen els criteris d'homogeneïtat ( $p \geq 0.05$ ) i, per tant, poden ser utilitzats per a la inferència estadística.

En avaluar la homogeneïtat de variàncies, aquesta condició s'ha complert en tots els valors de les sèries de cada grup ( $p \geq 0.05$ ,  $F^{\max}_{3,5-1,0,05} \leq 15.5$ ).

### 4.7.2. VARIACIONS EN L'ABSORCIO DE GLUCOSA I AIGUA EN CADA GRUP EN EL TEMPS

Tot coneixent les quantitats de glucosa i aigua perfundides a la llum del segment intestinal i posteriorment recollides, s'han pogut realitzar les determinacions que es detallen expressades en forma de mitjanes i dispersions típiques a les TAULES 110, 111 i 112. Tanmateix, l'evolució en l'absorció intestinal de glucosa i aigua es representa a les GRAFIQUES 13, 14 i 15. Els resultats procedents de l'aplicació de l'anàlisi de varianza i la prova de Scheffé per a valorar diferències estadísticament significatives en l'evolució que presenta l'absorció de glucosa i d'aigua a través de la superfície intraluminal de la mucosa intestinal per a cadascun dels grups es mostren a les TAULES 113 a 121.

	7 dies	14 dies	21 dies	36 dies
QUANTITAT DE GLUCOSA ABSORVIDA ( $\mu\text{Mol}$ )	1.495 $\pm 0.476$	1.859 $\pm 0.362$	1.535 $\pm 0.146$	2.087 $\pm 0.490$
VOLUM D'AIGUA ABSORVIT (ml)	0.460 $\pm 0.181$	0.480 $\pm 0.148$	0.560 $\pm 0.054$	0.700 $\pm 0.158$
GLUCOSA ABSORVIDA PER SUPERFICIE ( $\mu\text{Mol}/\text{cm}^2$ )	0.062 $\pm 0.019$	0.064 $\pm 0.018$	0.044 $\pm 0.010$	0.063 $\pm 0.012$
AIGUA ABSORVIDA PER SUPERFICIE ( $\text{ml}/\text{cm}^2$ )	0.019 $\pm 0.007$	0.016 $\pm 0.006$	0.015 $\pm 0.002$	0.021 $\pm 0.004$
ABSORCIO DE GLUCOSA I AIGUA ( $\mu\text{Mol}/\text{ml}$ )	3.375 $\pm 0.692$	3.991 $\pm 0.510$	2.745 $\pm 0.178$	2.975 $\pm 0.101$
ABSORCIO DE GLUCOSA I AIGUA PER SUPERFICIE ( $\mu\text{Mol}/\text{ml}/\text{cm}^2/10^4$ )	0.140 $\pm 0.023$	0.137 $\pm 0.023$	0.081 $\pm 0.024$	0.093 $\pm 0.017$

TAULA 110: ABSORCIO DE GLUCOSA I AIGUA EN ANIMALS PORTADORS DE NANSA DE THIRY-VELLA (GRUP A)

	7 dies	14 dies	21 dies	36 dies
QUANTITAT DE GLUCOSA ABSORVIDA ( $\mu\text{Mol}$ )	1.120 $\pm 0.171$	0.784 $\pm 0.155$	0.562 $\pm 0.004$	0.529 $\pm 0.119$
VOLUM D'AIGUA ABSORVIT (ml)	0.340 $\pm 0.054$	0.280 $\pm 0.044$	0.200 $\pm 0.000$	0.200 $\pm 0.000$
GLUCOSA ABSORVIDA PER SUPERFICIE ( $\mu\text{Mol}/\text{cm}^2$ )	0.037 $\pm 0.012$	0.040 $\pm 0.002$	0.028 $\pm 0.014$	0.013 $\pm 0.002$
AIGUA ABSORVIDA PER SUPERFICIE ( $\text{ml}/\text{cm}^2$ )	0.011 $\pm 0.003$	0.014 $\pm 0.002$	0.010 $\pm 0.005$	0.005 $\pm 0.002$
ABSORCIO DE GLUCOSA I AIGUA ( $\mu\text{Mol}/\text{ml}$ )	3.302 $\pm 0.223$	2.810 $\pm 0.366$	2.814 $\pm 0.022$	2.646 $\pm 0.597$
ABSORCIO DE GLUCOSA I AIGUA PER SUPERFICIE ( $\mu\text{Mol}/\text{ml}/\text{cm}^2/10'$ )	0.117 $\pm 0.052$	0.149 $\pm 0.024$	0.144 $\pm 0.074$	0.069 $\pm 0.012$

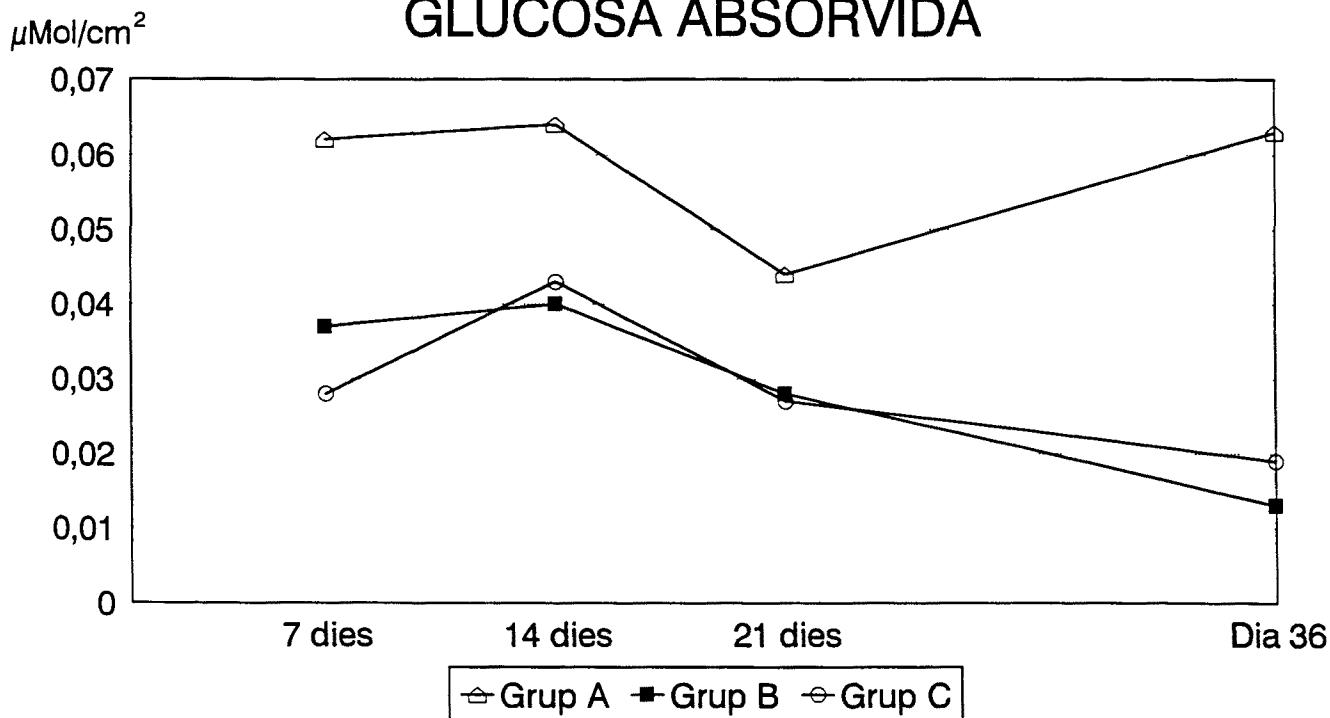
TAULA 111: ABSORCIO DE GLUCOSA I AIGUA DESPRES DEL ISOTRASPLANTAMENT INTESTINAL (GRUP B)

	7 dies	14 dies	21 dies	36 dies
QUANTITAT DE GLUCOSA ABSORVIDA ( $\mu\text{Mol}$ )	0.959 $\pm 0.276$	0.643 $\pm 0.057$	0.607 $\pm 0.277$	0.708 $\pm 0.309$
VOLUM D'AIGUA ABSORVIT (ml)	0.220 $\pm 0.083$	0.200 $\pm 0.000$	0.200 $\pm 0.100$	0.260 $\pm 0.114$
GLUCOSA ABSORVIDA PER SUPERFICIE ( $\mu\text{Mol}/\text{cm}^2$ )	0.028 $\pm 0.004$	0.043 $\pm 0.007$	0.027 $\pm 0.010$	0.019 $\pm 0.009$
AIGUA ABSORVIDA PER SUPERFICIE ( $\text{ml}/\text{cm}^2$ )	0.006 $\pm 0.001$	0.013 $\pm 0.002$	0.010 $\pm 0.003$	0.006 $\pm 0.003$
ABSORCIO DE GLUCOSA I AIGUA ( $\mu\text{Mol}/\text{ml}$ )	4.523 $\pm 0.602$	3.216 $\pm 0.288$	3.102 $\pm 0.278$	2.724 $\pm 0.011$
ABSORCIO DE GLUCOSA I AIGUA PER SUPERFICIE ( $\mu\text{Mol}/\text{ml}/\text{cm}^2/10'$ )	0.156 $\pm 0.103$	0.216 $\pm 0.037$	0.121 $\pm 0.057$	0.103 $\pm 0.018$

TAULA 112: ABSORCIO DE GLUCOSA I AIGUA DESPRES DEL ALOTRASPLANTAMENT INTESTINAL (GRUP C)

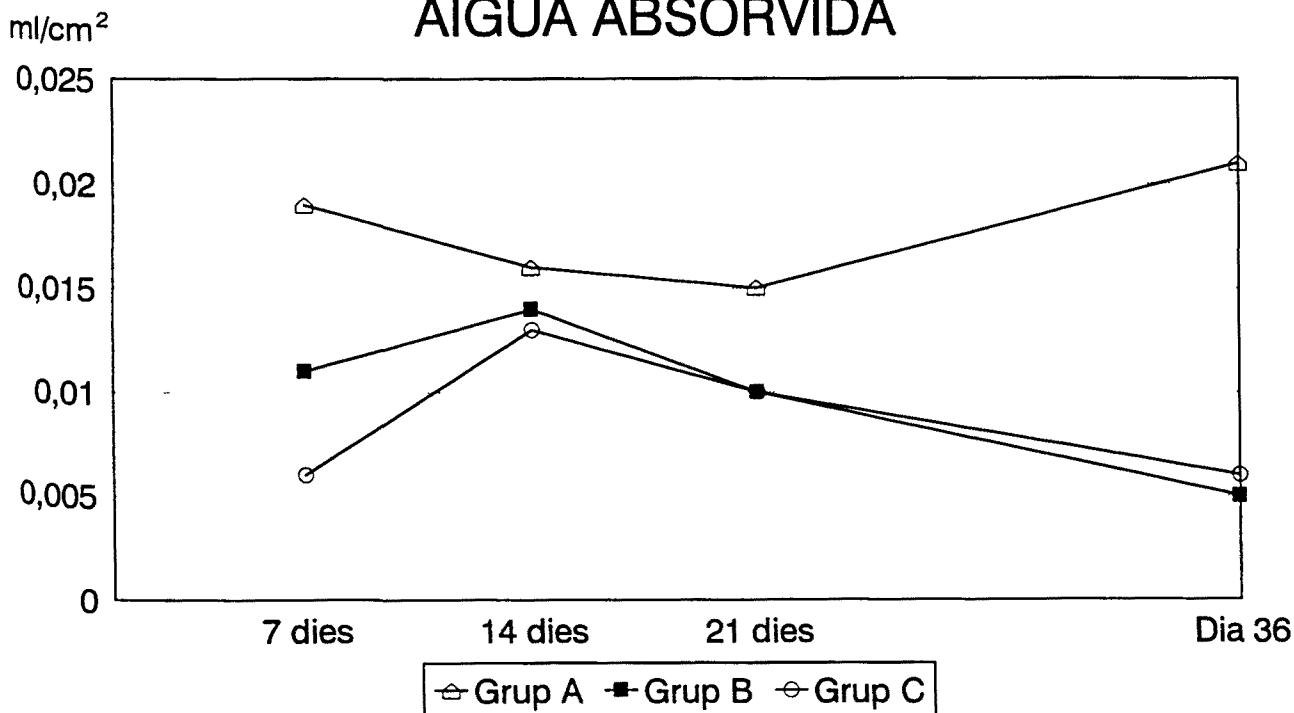
**GRAFICA 13**

### GLUCOSA ABSORVIDA



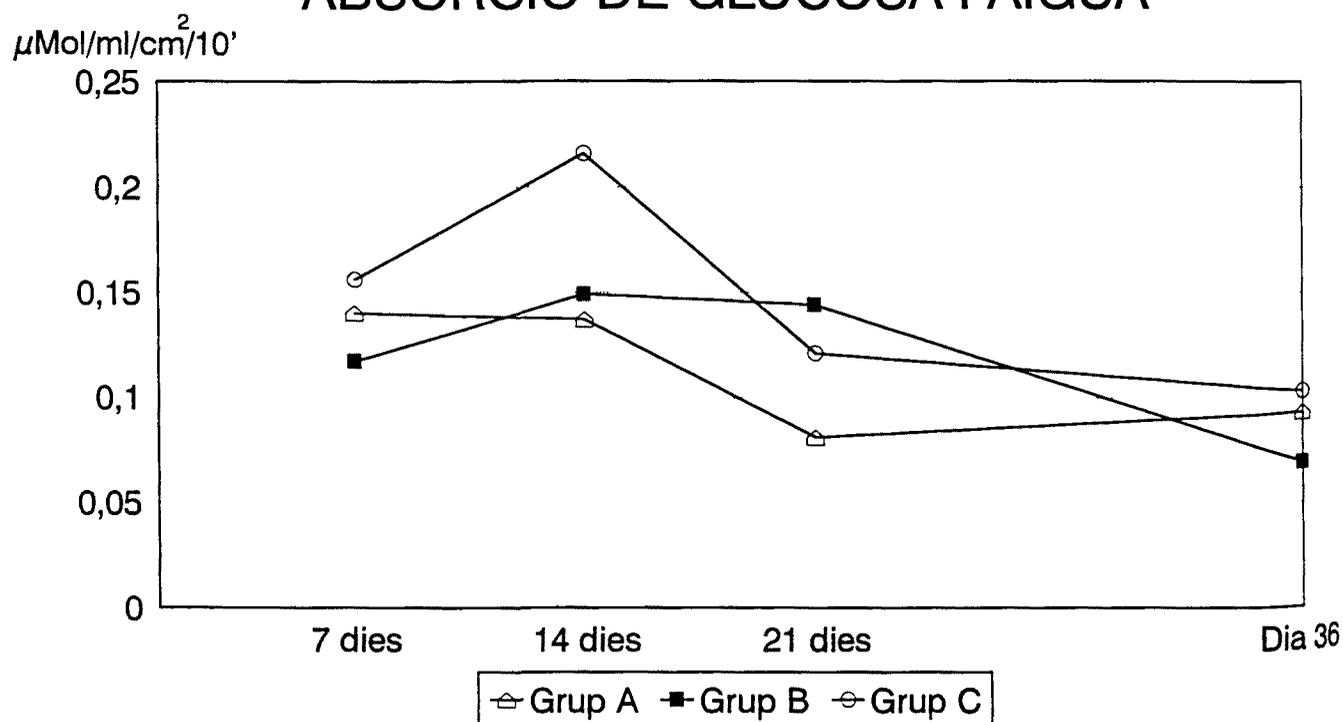
**GRAFICA 14**

### AIGUA ABSORVIDA



### GRAFICA 15

## ABSORCIO DE GLUCOSA I AIGUA



COMPARACIÓ DE MITJANES I GRAU DE SIGNIFICACIÓ EN L'EVOLUCIÓ DE L'ABSORCIÓ DE GLUCOSA PER SUPERFÍCIE ABSORTIVA INTESTINAL DINS DE CADA GRUP

NS=No Significatiu \*  $p < 0.05$

7d			
NS	14d		
NS	NS	21d	
NS	NS	NS	35d

TAULA 113: GRUP A

7d			
NS	14d		
NS	NS	21d	
*	*	NS	35d

TAULA 114: GRUP B

7d			
NS	14d		
NS	*	21d	
NS	NS	NS	36d

TAULA 115: GRUP C

COMPARACIÓ DE MITJANES I GRAU DE SIGNIFICACIÓ EN L'EVOLUCIÓ DE L'ABSORCIÓ D'AIGUA PER SUPERFÍCIE ABSORTIVA INTESTINAL DINS DE CADA GRUP

NS=No Significatiu \*  $p < 0.05$

7d			
NS	14d		
NS	NS	21d	
NS	NS	NS	35d

TAULA 116: GRUP A

7d			
NS	14d		
NS	NS	21d	
NS	*	NS	35d

TAULA 117: GRUP B

7d			
*	14d		
NS	*	21d	
NS	NS	NS	36d

TAULA 118: GRUP C

COMPARACIÓ DE MITJANES I GRAU DE SIGNIFICACIÓ EN L'EVOLUCIÓ DE L'ABSORCIÓ DE GLUCOSA I AIGUA PER SUPERFÍCIE ABSORTIVA INTESTINAL DINS DE CADA GRUP

NS=No Significatiu \*  $p < 0.05$

7d			
NS	14d		
*	*	21d	
*	NS	NS	35d

TAULA 119: GRUP A

7d			
NS	14d		
NS	NS	21d	
NS	NS	NS	35d

TAULA 120: GRUP B

7d			
NS	14d		
NS	NS	21d	
NS	NS	NS	36d

TAULA 121: GRUP C

#### **4.7.2.1. Grup A**

Amb el segment de budell prim disposat en forma de nansa de Thiry-Vella, s'ha observat una tendència a la disminució en els nivells d'absorció de glucosa i aigua, els quals presenten un increment després de la colocació del budell en continuïtat amb el trànsit digestiu (TAULA 110, GRAFIQUES 13, 14 i 15). La comparació de les mitjanes obtingudes per separat de l'absorció de glucosa i de l'absorció d'aigua amb l'objectiu de valorar les variacions que es produeixen en aquests paràmetres en relació al temps s'evolució no ha mostrat diferències estadísticament significatives (TAULES 113 i 116). En canvi, quan la comparació entre els diferents intervals de temps es realitza amb els valors de les mitjanes de l'absorció de glucosa per mililitre d'aigua i per unitat de superfície absorbent (TAULA 119), es donen diferències estadísticament significatives entre les determinacions inicials corresponents al dia 7 i els valors obtinguts posteriorment, als 14 i 36 dies.

#### **4.7.2.2. Grup B**

En el budell prim isotrasplantat, s'observa una disminució progressiva de la capacitat d'absorció de glucosa i aigua per part de la mucosa intestinal (TAULA 111, GRAFIQUES 13, 14 i 15).

Quan s'analitzen estadísticament per separat les variacions dels valors de l'absorció de glucosa per superfície absorbent (TAULA 114), es produeixen diferències estadísticament significatives entre les determinacions inicials dels 7 i 14 dies respecte als valors obtinguts al final del període (36 dies).

En relació a l'absorció d'aigua per unitat de superfície, també s'observen diferències estadísticament significatives entre els valors obtinguts als 14 dies i els corresponents als 36 dies (TAULA 117). En canvi, la comparació de les mitjanes obtingudes de l'absorció de glucosa per mililitre d'aigua i centímetre quadrat de superfície no evidencien diferències estadísticament significatives durant la seva evolució (TAULA 120).

#### **4.7.2.3. Grup C**

Després del alotrasplantament intestinal, s'observa una tendència a l'increment en els valors de l'absorció de glucosa i aigua fins el dia 14, però posteriorment es produeix una disminució progressiva d'aquesta capacitat d'absorció (TAULA 112, GRAFIQUES 13, 14 i 15).

La comparació de les mitjanes per establir diferències valorables en l'evolució de les determinacions obtingudes en relació al temps, mostra variacions estadísticament significatives en l'absorció de glucosa per unitat de superfície entre els 14 i els 21 dies (TAULA 115). Pel que fa a l'absorció d'aigua per centímetre quadrat, es poden observar variacions significatives en els intervals inicials, entre els 7 i 14 dies, i també entre els 14 i 21 dies (TAULA 118). La valoració conjunta de la capacitat d'absorció de glucosa i aigua no ha evidenciat diferències estadísticament significatives durant el període de temps estudiat (TAULA 121). Tampoc s'han donat diferències entre les determinacions corresponents al dia 21 i les del dia 36, de manera que la colocació del budell en forma ortotòpica no sembla modificar la capacitat absorbent per a la glucosa i l'aigua del budell trasplantat.

#### **4.7.3. COMPARACIÓ DE L'ABSORCIÓ DE GLUCOSA I AIGUA ENTRE ELS GRUPS**

Mitjançant l'anàlisi de variances i la prova de contrast de Scheffé, s'han comparat les mitjanes obtingudes en les determinacions de glucosa i aigua de cada grup durant un mateix interval de temps amb l'objectiu de detectar la presència de diferències estadísticament significatives amb les quals sigui possible valorar els efectes del trasplantament sobre la capacitat absorbent intestinal i comparar-los amb els produïts després de la simple exclusió de Thiry-Vella. Les dades obtingudes en aquest procés estadístic es mostren a les TAULES 122 a 133.

COMPARACIÓ DE MITJANES I GRAU DE SIGNIFICACIÓ ENTRE LES DETERMINACIONS DE L'ABSORCIO DE GLUCOSA PER UNITAT DE SUPERFICIE A DIFERENTS INTERVALS DE TEMPS

NS=No Significatiu \* p<0.05

A		
*	B	
*	NS	C

TAULA 122  
7 dies

A		
*	B	
NS	NS	C

TAULA 123  
14 dies

A		
NS	B	
*	NS	C

TAULA 124  
21 dies

A		
*	B	
*	NS	C

TAULA 125  
36 dies

COMPARACIÓ DE MITJANES I GRAU DE SIGNIFICACIÓ ENTRE LES DETERMINACIONS DE L'ABSORCIO D'AIGUA PER UNITAT DE SUPERFICIE A DIFERENTS INTERVALS DE TEMPS

NS=No Significatiu \* p<0.05

A		
NS	B	
*	NS	C

TAULA 126  
7 dies

A		
NS	B	
NS	NS	C

TAULA 127  
14 dies

A		
NS	B	
*	NS	C

TAULA 128  
21 dies

A		
*	B	
*	NS	C

TAULA 129  
36 dies

COMPARACIÓ DE MITJANES I GRAU DE SIGNIFICACIÓ ENTRE LES DETERMINACIONS DE L'ABSORCIO DE GLUCOSA I AIGUA PER UNITAT DE SUPERFICIE A DIFERENTS INTERVALS DE TEMPS

NS=No Significatiu \* p<0.05

A		
NS	B	
NS	NS	C

TAULA 130  
7 dies

A		
NS	B	
*	*	C

TAULA 131  
14 dies

A		
NS	B	
NS	NS	C

TAULA 132  
21 dies

A		
NS	B	
NS	NS	C

TAULA 133  
36 dies

#### **4.7.3.1. Als 7 dies**

Durant aquest període inicial, l'absorció de glucosa mostra diferències estadísticament significatives entre les determinacions corresponents al budell trasplantat (grups B i C) i les corresponents al budell control en nansa de Thiry-Vella (TAULA 122). L'absorció d'aigua només presenta variacions significatives entre el grup control i el budell alotrasplantat (TAULA 126).

Quan es comparen les mitjanes corresponents a les determinacions de la capacitat d'absorció de glucosa per mil·lilitre d'aigua i unitat de superfície no s'observen diferències estadísticament significatives entre els tres models experimentals aplicats (TAULA 130).

#### **4.7.3.2. Als 14 dies**

L'absorció de glucosa mostra diferències estadísticament significatives quan es comparen les determinacions del budell exclòs control amb el budell isotrasplantat (TAULA 123). En canvi, l'absorció d'aigua no es veu afectada en forma diferent per l'exclusió o el trasplantament del budell prim, no apreciànt-se diferències estadísticament significatives durant aquest interval de temps (TAULA 127).

Quan es valora la capacitat d'absorció de glucosa i aigua per unitat de superfície, es donen diferències entre el budell exclòs i el budell alotrasplantat i, també entre els dos tipus de trasplantament (TAULA 131).

#### **4.7.3.3. Als 21 dies**

L'absorció de glucosa per superfície i la d'aigua mostren diferències estadísticament significatives entre el budell exclòs control i el budell alotrasplantat, sense apreciar-se variacions importants en relació a tipus de trasplantament utilitzat (TAULES 124 i 128). L'avaluació de la capacitat d'absorció de glucosa per mil·lilitre d'aigua i per unitat de superfície no mostra diferències estadísticament significatives en relació al model experimental utilitzat (TAULA 132).

#### **4.7.3.4. Als 36 dies**

L'absorció de glucosa per superfície i la d'aigua presenten diferències estadísticament significatives entre el budell trasplantat i el budell control, sense que s'observin variacions en relació al tipus de trasplantament realitzat (TAULES 125 i 129).

Quant a la capacitat d'absorció de glucosa i aigua per unitat de superfície no es produeixen diferències estadísticament significatives en relació al model experimental utilitzat (TAULA 133).

## 4.8. ANALISI DE CORRELACIÓ I REGRESSIÓ

Amb la finalitat de conèixer l'existència de relació o dependència entre alguns dels paràmetres determinats, hem obtingut el valor de l'índex  $r_{xy}$  o *coeficient de correlació lineal de Pearson*.

El quadrat d'aquest coeficient de correlació  $r_{xy}^2$ , anomenat *coeficient de determinació*, ens permet avaluar l'intensitat de la relació.

Per tal de descriure les característiques d'aquesta relació lineal entre els paràmetres o variables estudiats, s'ha establert l'equació de la recta que millor s'ajusta a les dades de la distribució observada o *recta de regressió*. Amb els valors de la recta de regressió es poden inferir prediccions sobre l'interval de confiança del valor en mitjana que prendrà la variable dependent per cada grau de variació dels valors de la variable independent.

Aquestes proves han estat realitzades dins de cada grup A, B i C, és a dir, incloent en el grup que s'analitza les mostres procedents dels diferents intervals de temps.

L'anàlisi de correlació i regressió ha permès d'avaluar la presència de relacions entre paràmetres morfomètrics i funcionals, entre paràmetres morfològics i funcionals, entre els paràmetres funcionals entre sí i entre els paràmetres morfomètrics entre sí.

### 4.8.1. REGRESSIÓ I CORRELACIÓ SIMPLE O PARCIAL

#### **4.8.1.1. Relació entre variables morfològiques i funcionals**

La detecció de relacions de dependència entre el grau d'afectació de la micromorfologia de la superfície mucosa del budell prim (*puntuació superfície intraluminal*) i la capacitat funcional per a l'absorció de glucosa i d'aigua (*glucosa absorvida per superfície ( $\mu\text{Mol}/\text{cm}^2$ ), quantitat d'aigua absorvida per superfície ( $\text{ml}/\text{cm}^2$ )*) s'ha realitzat amb el mètode de regressió i correlació parcial. Els valors obtinguts del coeficient de correlació de Pearson ( $r$ ), del coeficient de determinació ( $r^2$ ), el grau de significació ( $p$ ) i els marges de l'interval de confiança al 95% es mostren de la TAULA 134 a la 139.

CORRELACIO I REGRESSIO SIMPLE
Variable dependent: <b>Puntuació superfície mucosa</b>
$r = 0.146$ $r^2 = 0.021$ $p = 0.536$
NO REUNEIXEN CRITERIS DE DEPENDENCIA ( $r \leq r_{18,0.05} = 0.44$ ; $p \geq 0.05$ )

TAULA 134: RELACIO MORFOLOGIA-ABSORCIO DE GLUCOSA EN EL GRUP A

CORRELACIO I REGRESSIO SIMPLE
Variable dependent: <b>Puntuació superfície mucosa</b>
$r = 0.465$ $r^2 = 0.216$ $p = 0.044$
NO REUNEIXEN CRITERIS DE DEPENDENCIA ( $r \leq r_{17,0.05} = 0.45$ ; $p \geq 0.05$ )

TAULA 135: RELACIO MORFOLOGIA-ABSORCIO DE GLUCOSA EN EL GRUP B

CORRELACIO I REGRESSIO SIMPLE
Variable dependent: <b>Puntuació superfície mucosa</b>
$r = 0.199$ $r^2 = 0.039$ $p = 0.414$
NO REUNEIXEN CRITERIS DE DEPENDENCIA ( $r \leq r_{17,0.05} = 0.45$ ; $p \geq 0.05$ )

TAULA 136: RELACIO MORFOLOGIA-ABSORCIO DE GLUCOSA EN EL GRUP C

CORRELACIÓ I REGRESSIÓ SIMPLE
Variable dependent: <b>Puntuació superfície mucosa</b>
$r = 0.186$ $r^2 = 0.034$ $p = 0.431$
NO REUNEIXEN CRITERIS DE DEPENDÈNCIA ( $r \leq r_{(18,0.05)} = 0.44$ ; $p \geq 0.05$ )

TAULA 137: RELACIÓ MORFOLOGIA-ABSORCIÓ D'AIGUA EN EL GRUP A

CORRELACIÓ I REGRESSIÓ SIMPLE
Variable dependent: <b>Puntuació superfície mucosa</b>
$r = 0.497$ $r^2 = 0.247$ $p = 0.030$
NO REUNEIXEN CRITERIS DE DEPENDÈNCIA ( $r \leq r_{(17,0.05)} = 0.45$ ; $p \geq 0.05$ )

TAULA 138: RELACIÓ MORFOLOGIA-ABSORCIÓ D'AIGUA EN EL GRUP B

CORRELACIÓ I REGRESSIÓ SIMPLE
Variable dependent: <b>Puntuació superfície mucosa</b>
$r = 0.005$ $r^2 = 0.000$ $p = 0.982$
NO REUNEIXEN CRITERIS DE DEPENDÈNCIA ( $r \leq r_{(17,0.05)} = 0.45$ ; $p \geq 0.05$ )

TAULA 139: RELACIÓ MORFOLOGIA-ABSORCIÓ D'AIGUA EN EL GRUP C

L'anàlisi de correlació i regressió simple entre els paràmetres morfològics i funcionals estudiats mostra una manca de dependència significativa entre ells. Tot observant aquests resultats, es pot afirmar que el grau d'afectació de la micromorfologia de la superfície mucosa del budell prim expressat en forma de puntuació no reflecteix necessàriament alteracions en la capacitat funcional per a l'absorció de glucosa i aigua ni en el budell trasplantat ni en el dispostat en forma de nansa de Thiry-Vella.

#### **4.8.1.2. Relació entre variables morfomètriques i funcionals**

Els resultats obtinguts de l'anàlisi de correlació i regressió simple per tal d'establir relacions de dependència entre el tamany de la superfície absorbiva (*Area epitelial absorbiva (cm<sup>2</sup>)*) i la capacitat d'absorció de glucosa i d'aigua (*Quantitat de glucosa absorvida (μMol)*, *Volum d'aigua absorvit (ml)*) es mostren de la TAULA 140 a la 145.

CORRELACIO I REGRESSIO SIMPLE
Variable dependent: <b>Area absortiva (cm<sup>2</sup>)</b>
<b><math>r = 0.213</math>    <math>r^2 = 0.045</math>    <math>p = 0.367</math></b>
NO REUNEIXEN CRITERIS DE DEPENDENCIA ( $r \leq r_{(18, 0.05)} = 0.44$ ; $p \geq 0.05$ )

**TAULA 140: RELACIO AREA ABSORTIVA I ABSORCIO DE GLUCOSA EN EL GRUP A**

CORRELACIO I REGRESSIO SIMPLE
Variable dependent: <b>Area absortiva (cm<sup>2</sup>)</b>
<b><math>r = 0.255</math>    <math>r^2 = 0.065</math>    <math>p = 0.291</math></b>
NO REUNEIXEN CRITERIS DE DEPENDENCIA ( $r \leq r_{(17, 0.05)} = 0.45$ ; $p \geq 0.05$ )

**TAULA 141: RELACIO AREA ABSORTIVA I ABSORCIO DE GLUCOSA EN EL GRUP B**

CORRELACIO I REGRESSIO SIMPLE
Variable dependent: <b>Area absortiva (cm<sup>2</sup>)</b>
<b><math>r = 0.523</math>    <math>r^2 = 0.274</math>    <math>p = 0.021</math></b>
<b>Interval de confiança (<math>\alpha = 0.05</math>)</b>
<b>Glucosa absorvida    3.27 a 35.83 <math>\mu</math>Mols</b>
REUNEIXEN CRITERIS DE DEPENDENCIA ( $r \geq r_{(17, 0.05)} = 0.45$ ; $p \leq 0.05$ )

**TAULA 142: RELACIO AREA ABSORTIVA I ABSORCIO DE GLUCOSA EN EL GRUP C**

CORRELACIO I REGRESSIO SIMPLE
Variable dependent: <b>Area absorbiva (cm<sup>2</sup>)</b>
$r = 0.308$ $r^2 = 0.095$ $p = 0.185$
NO REUNEIXEN CRITERIS DE DEPENDENCIA ( $r \leq r_{(118, 0.05)} = 0.44$ ; $p \geq 0.05$ )

TAULA 143: RELACIO AREA ABSORTIVA I ABSORCIO D'AIGUA EN EL GRUP A

CORRELACIO I REGRESSIO SIMPLE
Variable dependent: <b>Area absorbiva (cm<sup>2</sup>)</b>
$r = 0.185$ $r^2 = 0.034$ $p = 0.446$
NO REUNEIXEN CRITERIS DE DEPENDENCIA ( $r \leq r_{(17, 0.05)} = 0.45$ ; $p \geq 0.05$ )

TAULA 144: RELACIO AREA ABSORTIVA I ABSORCIO D'AIGUA EN EL GRUP B

CORRELACIO I REGRESSIO SIMPLE
Variable dependent: <b>Area absorbiva (cm<sup>2</sup>)</b>
$r = 0.314$ $r^2 = 0.099$ $p = 0.189$
NO REUNEIXEN CRITERIS DE DEPENDENCIA ( $r \leq r_{(17, 0.05)} = 0.45$ ; $p \geq 0.05$ )

TAULA 145: RELACIO AREA ABSORTIVA I ABSORCIO D'AIGUA EN EL GRUP C

No s'ha observat una relació de dependència entre el tamany de l'àrea absorbiva de la mucosa i l'absorció de glucosa en els Grups A i B.

En el Grup C o de budell alotrasplantat, la quantitat de glucosa absorvida ha presentat una relació de dependència positiva amb el tamany de l'àrea absorbiva de la mucosa. El 52% de la variabilitat de la quantitat de glucosa absorvida pel budell alotrasplantat pot ser explicat per les variacions de tamany de l'àrea absorbiva.

La pendent de la recta de regressió indica que per cada  $\text{cm}^2$  de variació del tamany de la superfície absorbiva mucosa es preveu un augment mitjà de la quantitat de glucosa absorvida entre  $3.27 \mu\text{Mol}$  i  $35.83 \mu\text{Mol}$ .

Pel que fa al volum d'aigua, no s'ha demostrat una relació de dependència amb el tamany de la superfície absorbiva en cap dels grups.

#### 4.8.1.3. Relació entre variables funcionals

Els valors obtinguts de l'anàlisi de correlació i regressió simple per tal d'avaluar relacions entre l'absorció de glucosa i la d'aigua es mostren a les TAULES 146, 147 i 148.

CORRELACIO I REGRESSIO SIMPLE
Variable dependent: <b>Glucosa per superfície (<math>\mu\text{Mol}/\text{cm}^2</math>)</b>
$r = 0.866$ $r^2 = 0.750$ $p = 0.000$
<b>Interval de confiança (<math>\alpha = 0.05</math>)</b>
<b>Aigua per superfície</b> 1.85 a 3.33 ml/cm <sup>2</sup>
REUNEIXEN CRITERIS DE DEPENDENCIA ( $r \geq r_{(18,0.01)} = 0.56$ ; $p \leq 0.01$ )

TAULA 146: RELACIO ENTRE LES ABSORCIIONS DE GLUCOSA I D'AIGUA EN EL GRUP A

CORRELACIO I REGRESSIO SIMPLE
Variable dependent: <b>Glucosa per superfície (<math>\mu\text{Mol}/\text{cm}^2</math>)</b>
$r = 0.932$ $r^2 = 0.868$ $p = 0.000$
<b>Interval de confiança (<math>\alpha = 0.05</math>)</b>
<b>Aigua per superfície</b> 2.21 a 3.31 ml/cm <sup>2</sup>
REUNEIXEN CRITERIS DE DEPENDENCIA ( $r \geq r_{(17,0.01)} = 0.57$ ; $p \leq 0.01$ )

TAULA 147: RELACIO ENTRE LES ABSORCIIONS DE GLUCOSA I D'AIGUA EN EL GRUP B

CORRELACIO I REGRESSIO SIMPLE
Variable dependent: <b>Glucosa per superfície (<math>\mu\text{Mol}/\text{cm}^2</math>)</b>
$r = 0.885$ $r^2 = 0.784$ $p = 0.000$
<b>Interval de confiança (<math>\alpha = 0.05</math>)</b>
<b>Aigua per superfície</b> 1.86 a 3.24 ml/cm <sup>2</sup>
REUNEIXEN CRITERIS DE DEPENDENCIA ( $r \geq r_{(17,0.01)} = 0.57$ ; $p \leq 0.01$ )

TAULA 148: RELACIO ENTRE LES ABSORCIIONS DE GLUCOSA I D'AIGUA EN EL GRUP C

S'ha demostrat una relació de dependència significativa positiva entre l'absorció de glucosa i la d'aigua tant en el budell prim trasplantat com en el budell disposat en nansa de Thiry-Vella.

Segons els coeficients de determinació ( $r_2$ ), en el Grup A, el 75.6% de la variabilitat de la quantitat de glucosa absorvida per superfície pot ser explicat per les variacions en l'absorció d'aigua; en el Grup B, el 86.8% de la variabilitat de la quantitat de glucosa absorvida per superfície pot ser explicat per les variacions en l'absorció d'aigua i en el Grup C, el 78.4% de la variabilitat de la quantitat de glucosa absorvida per superfície pot ser explicat per les variacions en l'absorció d'aigua.

Les pendents de les rectes de regressió indiquen que:

- \* En el Grup A, per cada  $\mu\text{Mol}/\text{cm}^2$  de glucosa absorvida es preveu un augment mitjà de l'absorció d'aigua entre 1.85 i 3.33 ml/cm<sup>2</sup>.
- \* En el Grup B, per cada  $\mu\text{Mol}/\text{cm}^2$  de glucosa absorvida es preveu un augment mitjà de l'absorció d'aigua entre 2.21 i 2.31 ml/cm<sup>2</sup>.
- \* En el Grup C, per cada  $\mu\text{Mol}/\text{cm}^2$  de glucosa absorvida es preveu un augment mitjà de l'absorció d'aigua entre 1.86 i 3.24 ml/cm<sup>2</sup>.

## 4.8.2. REGRESSIO MULTIPLE

### 4.8.2.1. Relació entre variables morfològiques

L'establiment de relacions entre el tamany de l'àrea absorbiva de la mucosa i altres determinacions morfològiques com són l'alçada, amplada i superfície absorbiva mitjana per vellositat, el diàmetre i el percentatge mitjà d'escurçament del segment intestinal permet valorar quin d'aquests paràmetres influeix de forma més important sobre les variacions de tamany de la superfície absorbiva mucosa.

Els valors dels coeficients de correlació múltiple ( $R$ ) en els Grups A, B i C es mostren a les TAULES 149, 150 i 151.

Tanmateix, el conjunt de *coeficients de regressió* ( $r$ ) obtinguts per a valorar la importància amb que cadascuna de les variables independents contribueix a explicar la variable dependent, es mostren en forma de *matriu de correlacions* a les TAULES 152, 153 i 154.

CORRELACIO I REGRESSIO MULTIPLE	
Variable dependent: <b>Àrea absorbiva (cm<sup>2</sup>)</b>	
<b>R = 0.759</b>	<b>R<sup>2</sup> = 0.577</b> <b>p = 0.021</b>
<b>Interval de confiança (<math>\alpha=0.05</math>)</b>	
<b>Alçada vellositats</b>	<b>-0.09 a 0.28 <math>\mu</math></b>
<b>Amplada vellositats</b>	<b>-0.29 a 0.05 <math>\mu</math></b>
<b>Superfície per vellositat</b>	<b>-0.11 a 0.07 <math>\mu</math></b>
<b>Diàmetre</b>	<b>1.87E-0.4 a 0.018 <math>\mu</math></b>
<b>Eскурçament</b>	<b>-0.82 a 0.52 %</b>
REUNEIXEN CRITERIS DE DEPENDENCIA ( $R \geq r_{(14,0.05)} = 0.71$ ; $p \leq 0.05$ )	

TAULA 149: RELACIO ENTRE PARAMETRES MORFOMETRICS EN EL GRUP A

CORRELACIO I REGRESSIO MULTIPLE	
Variable dependent: <b>Area absorbiva (cm<sup>2</sup>)</b>	
<b>R = 0.936</b>	<b>R<sup>2</sup> = 0.876    p = 0.000</b>
<b>Interval de confiança (α=0.05)</b>	
<b>Alçada vellositats</b>	<b>-0.32 a 0.17 μ</b>
<b>Amplada vellositats</b>	<b>-0.28 a 0.003 μ</b>
<b>Superfície per vellositat</b>	<b>-0.02 a 0.20 μ</b>
<b>Diàmetre</b>	<b>0.001 a 0.027 μ</b>
<b>Escurçament</b>	<b>-1.18 a 0.43 %</b>
<b>REUNEIXEN CRITERIS DE DEPENDENCIA (R ≥ r<sub>(13,0.01)</sub> = 0.80; p ≤ 0.01)</b>	

**TAULA 150: RELACIO ENTRE PARAMETRES MORFOMETRICS EN EL GRUP B**

CORRELACIO I REGRESSIO MULTIPLE	
Variable dependent: <b>Area absorbiva (cm<sup>2</sup>)</b>	
<b>r = 0.850</b>	<b>r<sup>2</sup> = 0.723    p = 0.000</b>
<b>Interval de confiança (α=0.05)</b>	
<b>Alçada vellositats</b>	<b>-0.04 a 0.15 μ</b>
<b>Amplada vellositats</b>	<b>-0.40 a -0.003 μ</b>
<b>Superfície per vellositat</b>	<b>-0.03 a 0.04 μ</b>
<b>Diàmetre</b>	<b>0.009 a 0.022 μ</b>
<b>Escurçament</b>	<b>-1.12 a -0.18 %</b>
<b>REUNEIXEN CRITERIS DE DEPENDENCIA (r ≥ r<sub>(13,0.01)</sub> = 0.80; p ≤ 0.01)</b>	

**TAULA 151: RELACIO ENTRE PARAMETRES MORFOMETRICS EN EL GRUP C**

<b>Area absortiva</b>					
0.36	<b>Alçada vellositats</b>				
0.09	0.46	<b>Amplada vellositats</b>			
0.20	0.93 **	0.59 *	<b>Superfície vellositats</b>		
0.57 *	0.21	0.59 *	0.27	<b>Diàmetre budell</b>	
0.34	0.30	0.55 *	0.40	0.79 **	<b>Percentatge escurçament</b>

**TAULA 152: MATRIU DE CORRELACIONS (r) ENTRE VARIABLES MORFOMETRIQUES (GRUP A)**

(\* = dependència significativa ( $p \leq 0.01$ ), \*\* = dependència significativa ( $p \leq 0.001$ ))

<b>Area absortiva</b>					
0.79 **	<b>Alçada vellositats</b>				
-0.39	-0.37	<b>Amplada vellositats</b>			
0.83 **	0.98 **	-0.34	<b>Superfície vellositats</b>		
0.82 **	0.64 *	-0.15	0.66 **	<b>Diàmetre budell</b>	
0.24	0.62 *	-0.50	0.55 **	0.03	<b>Percentatge escurçament</b>

**TAULA 153: MATRIU DE CORRELACIONS (r) ENTRE VARIABLES MORFOMETRIQUES (GRUP B)**

(\* = dependència significativa ( $p \leq 0.01$ ), \*\* = dependència significativa ( $p \leq 0.001$ ))

<b>Àrea absortiva</b>					
0.24	<b>Alçada vellositats</b>				
0.08	0.70 **	<b>Amplada vellositats</b>			
0.27	0.77 **	0.71 **	<b>Superfície vellositats</b>		
0.67 **	0.13	0.19	0.22	<b>Diàmetre budell</b>	
-0.17	-0.22	-0.28	-0.21	0.31	<b>Percentatge escurçament</b>

**TAULA 154: MATRIU DE CORRELACIONS (r) ENTRE VARIABLES MORFOMETRIQUES (GRUP C)**

(\* = dependència significativa ( $p \leq 0.01$ ), \*\* = dependència significativa ( $p \leq 0.001$ ))

Els valors dels coeficients de correlació múltiple (R) (TAULES 149, 150 i 151) mostren que existeix una relació significativa entre el tamany de l'àrea absortiva mucosa i les altres variables morfomètriques analitzades en els tres Grups d'animals.

En avaluar quina d'aquestes variables contribueix de forma més important sobre les variacions de tamany de l'àrea absortiva (TAULES 152, 153 i 154), els coeficients de regressió múltiple han mostrat una dependència positiva significativa amb el diàmetre en els tres Grups.

Amb el càlcul dels coeficients de determinació, s'ha observat que la variabilitat del tamany de l'àrea absortiva és explicada per variacions del diàmetre en un 33% per al Grup A, en un 68% en el Grup B i en un 45% en el Grup C.

En el Grup B o d'isotrasplantament, també s'han observat relacions de dependència significativa entre el tamany de l'àrea absortiva i l'alçada i superfície absortiva mitjana per vellositat, amb uns graus de dependència del 62% i del 68% respectivament per a cadascuna d'aquestes dues variables.

## **4.9. ALTERACIONS ULTRAESTRUCTURALS**

Les mostres del budell prim trasplantat ortotòpicament i procedents de les Sèries c dels Grups B i C han estat processades en forma de talls ultrafins per tal de ser observades al Microscopi Electrònic de Transmissió (MET).

L'estudi ultraestructural s'ha centrat sobre les cèl.lules absortives en les quals s'han valorat aspectes com són la seva apariència morfològica general i del citoplasma, la vora de microvillis i xarxa terminal, reticle endoplasmàtic, mitocòndries, membrana cel.lular lateral i espai intercel.lular. Les característiques d'aquestes estructures han estat comparades entre el budell iso i alotrasplantat i en relació a les observades en mostres de budell prim normal procedents de segments intestinals equivalents.

### **4.9.1. CITOPLASMA**

A diferència del que es pot observar al citoplasma dels enteròcits del budell normal, en el budell trasplantat destaca la presència d'abundants vacúols tant en el grup d'iso com en el d'alotrasplantament (FIGURA 37). Llevat d'aquesta alteració, les cèl.lules presenten un aspecte morfològic conservat.

### **4.9.2. VORA DE MICROVELLOSITATS I XARXA TERMINAL**

La vora de microvellositats presenta una apariència general sense alteracions. Quan s'observen les microvellositats en secció transversal, s'aprecia una certa manca de nitideça als filaments del citoesquelet, la qual podria reflexar algun tipus de degeneració en aquesta estructura.

Tanmateix, en les mostres de budell prim isotrasplantat, les microvellositats presenten una sèrie de rugositats en la seva membrana, tal com pot observarse a la FIGURA 38.

Pel que fa a l'estat de la xarxa terminal, si bé és molt difícil observar correctament aquesta estructura, la densitat que correspon a la seva localització no sembla mostrar diferències entre el budell normal i el budell iso i alotrasplantat. Les

vesícules de pinocitosi a la base de la vora en raspall han estat presents en les mostres procedents dels dos grups de budell trasplantat.

#### 4.9.3. RETICLE ENDOPLASMÀTIC

A diferència del que s'observa en el budell normal, en els talls procedents de mostres de budell trasplantat, el reticle endoplasmàtic presenta una certa desestructuració i un tamany més reduït (FIGURA 39), tot mostrant una proporció més important del reticle endoplasmàtic rugós respecte al llis.

#### 4.9.4. MITOCONDRIES

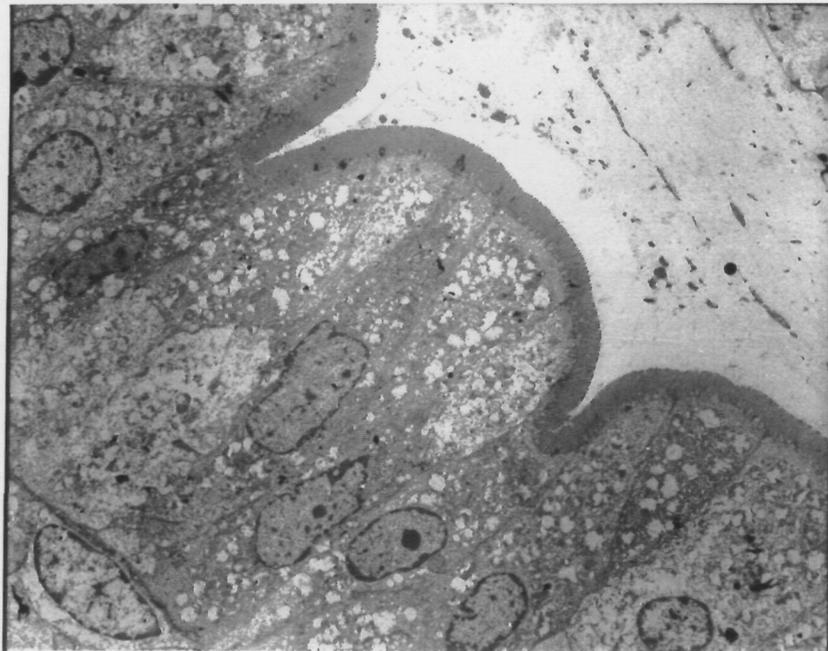
Tant entremig de les estructures del reticle endoplasmàtic com a la seva localització en altres zones, les mitocòndries es mostren augmentades de tamany i amb les membranes trencades en el budell isotrasplantat. En canvi, en el budell alotrasplantat la seva morfologia es manté preservada (FIGURA 40).

#### 4.9.5. ESPAI INTERCEL·LULAR

La membrana lateral dels enteròcits no mostra les interdigitacions que poden observar-se entre cèl·lules adjacents en el budell normal. En els enteròcits del budell isotrasplantat, es mantenen conservats els complexos d'unió intercel·lular a la zona apical, si bé l'espai intercel·lular presenta una certa irregularitat al llarg del seu trajecte.

En el budell prim alotrasplantat, el citoplasma al voltant de la membrana cel·lular lateral presenta nombrosos vacúols de tamany variats, els quals adhuc arriben a deformar el propi espai intercel·lular (FIGURA 41).





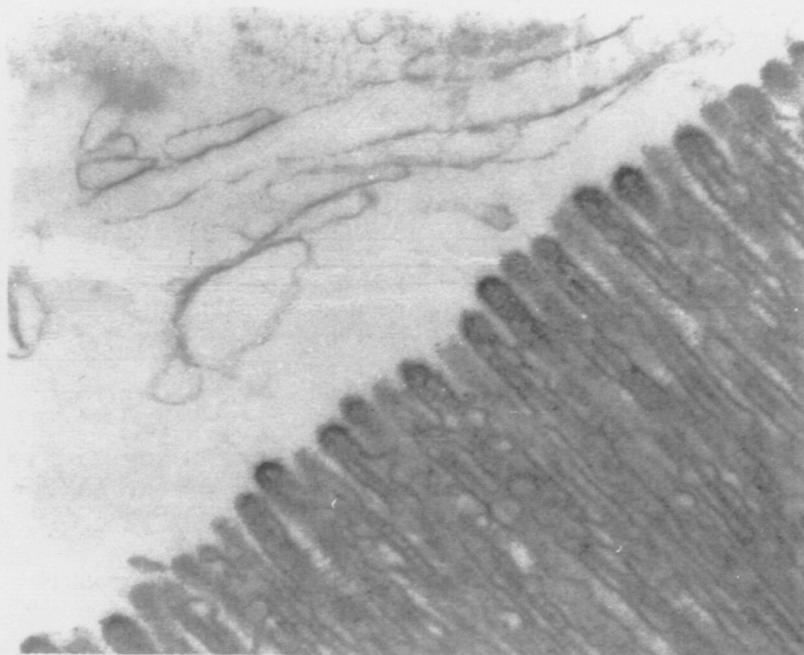
**FIGURA 37: CEL·LULES EPITELIALS DEL BUDELL PRIM ISOTRASPLANTAT  
(MET, 1.600x a la magnificació original).**

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL

Mercè Hernández i González

ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010



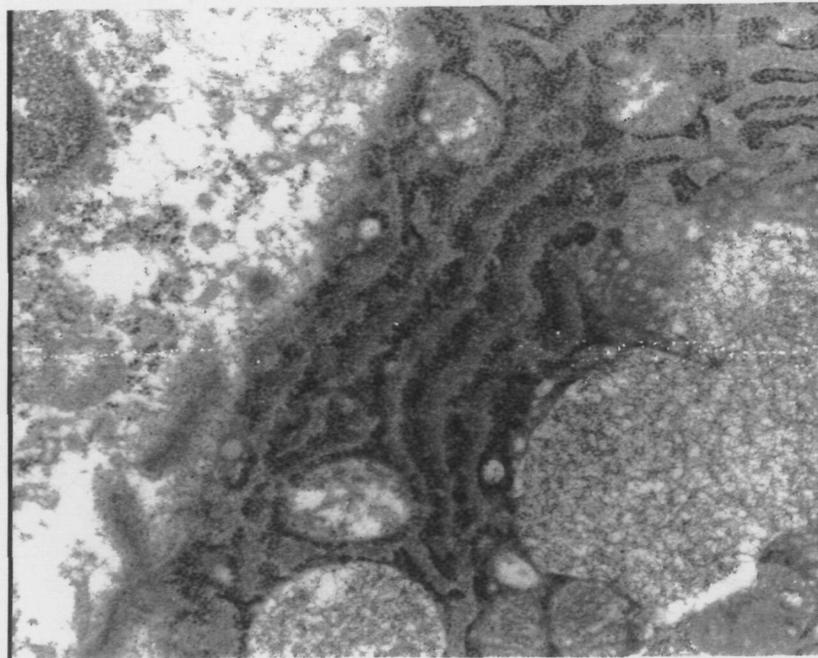
**FIGURA 38: MICROVELLOSITATS DELS ENTEROCITS DEL BUDELL PRIM ALOTRASPLANTAT (MET, 31.500x a la magnificació original).**

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL

Mercè Hernández i González

ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010



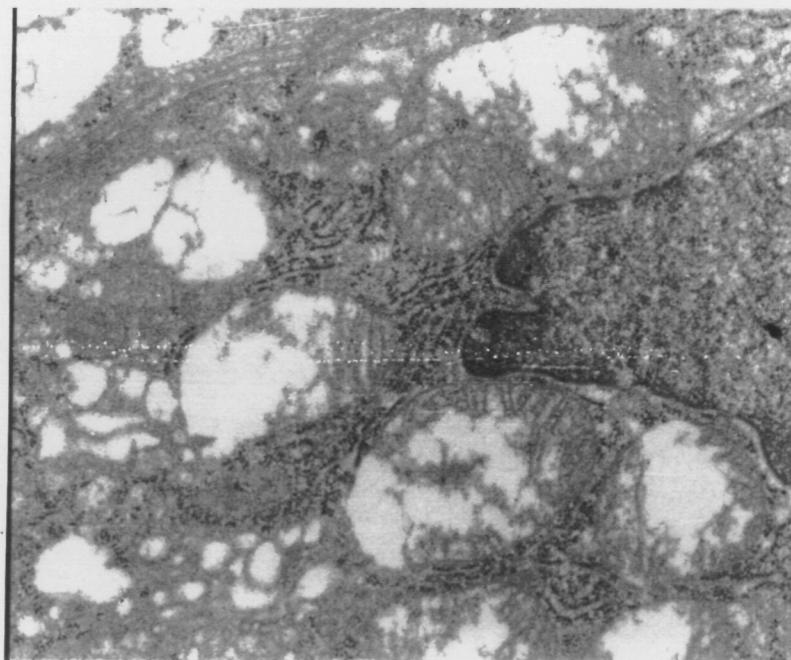
**FIGURA 39: RETICLE ENDOPLASMATIC DELS ENTEROCITS DEL BUDELL PRIM ALOTRASPLANTAT (MET, 25.000x a la magnificació original).**

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL

Mercè Hernández i González

ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010



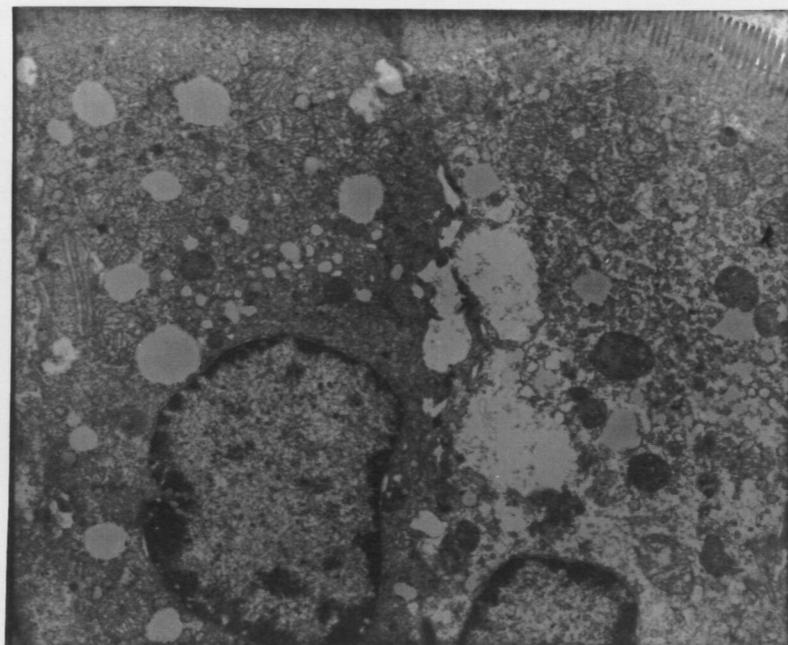
**FIGURA 40: MITOCONDRIES EN ELS ENTEROCITS DEL BUDELL PRIM ISOTRASPLANTAT  
(MET, 20.000x a la magnificació original).**

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL

Mercè Hernández i González

ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010



**FIGURA 41: DEFORMACIÓ DE L'ESPACI INTERCEL·LULAR EN ELS ENTEROCITS DEL BUDELL ISOTRASPLANTAT (MET 5.000x a la magnificació original).**

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL

Mercè Hernández i González

ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010

## **5. DISCUSSIO**



## 5. DISCUSSIO

### 5.1. MODEL EXPERIMENTAL

#### 5.1.1. TIPUS DE TRASPLANTAMENT

El model experimental de Deltz i Thiede de trasplantament ortotòpic en dos temps<sup>12</sup> utilitzat en el present treball resulta adequat per a la realització d'estudis de la funció absortiva intestinal, sobre tot durant la fase en que el budell trasplantat es troba disposat en forma heterotòpica i amb dues ostomies cutànies<sup>21,161,163,301</sup>. La majoria de treballs sobre trasplantament intestinal a la rata utilitzen aquest tipus de trasplantament<sup>15,71,101,142,147,167</sup>.

#### 5.1.2. CONSIDERACIONS TECNiques

Per tal de minimitzar els efectes mecànics derivats de la tècnica, a més d'una dissecció acurada del pedicle vascular, és útil marcar certes lligadures de forma que es faciliti la localització posterior de determinades zones<sup>302</sup>. La identificació del pedicle venós posteriorment al rentat vascular resulta més fàcil quan s'ha deixat marcada la lligadura de la vena esplènica durant l'extracció del budell. A més a més, amb el marcatge també s'assegura la orientació correcta de l'empelt<sup>302</sup>.

En relació a la preservació en isquèmia freda del budell donant, cal tenir en compte els possibles efectes lesius del rentat vascular sobre la microcirculació<sup>303</sup>. El model experimental de Monchick i Russell<sup>11</sup>, en el qual es basen la majoria de treballs, descriu el rentat vascular *in situ* a través de la perfusió de la solució freda a l'artèria aorta distalment a la sortida de la mesentèrica superior i drenant cap a la vena porta. Seguint aquest model, hem realitzat la lligadura de la vena esplènica prèviament a la perfusió, sense observar la congestió venosa que descriu Zhong quan recomana de no realitzar aquesta lligadura fins no haver finalitzat el rentat<sup>302</sup>.

Actualment encara no hi ha acord sobre el mètode d'elecció per a la preservació del budell a trasplantar, havent controvèrsia entre la utilització de la solució d'Eurocollins o la de la Universitat de Wisconsin front d'altres solucions més clàssiques<sup>62,63,59,66,304</sup>. En el nostre cas, hem preferit l'ús del Ringer lactat donat que

els temps d'isquèmia freda no havien de superar els 60 minuts i seguint la recomanació de Toledo-Pereira de reservar les solucions esmentades per a estudis de viabilitat després de períodes d'isquèmia freda superiors a 6 hores<sup>59</sup>.

Els temps operatoris mitjans utilitzats per a cadascuna de les fases del trasplantament han estat similars als referits per l'equip de Deltz<sup>12</sup>, inclús pel que fa al període d'isquèmia freda, amb una mitjana de 48 minuts. Però aquest temps registrat al nostre treball és superior al d'alguns autors els quals el redueixen fins a 22<sup>305</sup> o 26 ± 4 minuts<sup>302</sup>.

Considerant aquesta reducció en el temps d'isquèmia freda, s'han descrit mètodes d'anastomosi vascular termino-terminal amb la tècnica del *cuff* de l'artèria mesentèrica i la vena porta amb els vasos renals, obtenint-se temps d'isquèmia mitjans de només 10 ± 4 minuts<sup>306,307</sup>. Es podria pensar que les avantatges que suposa aquesta reducció de temps no estarien compensades pel risc de complicacions associats a la nefrectomia que cal realitzar en el receptor<sup>302</sup>, però en els treballs que apliquen aquesta tècnica no s'han produït<sup>15,308</sup>.

### 5.1.3. MORBIDITAT I MORTALITAT

Les causes principals de morbimortalitat han estat d'origen tècnic i d'origen sèptic. La trombosi venosa ha estat la complicació vascular mortal més freqüent, amb un 7,31% dels animals trasplantats, mentre que d'altres estudis també a la rata mostren unes incidències que varien des del 2.5 al 25%<sup>20,147,148,181,302</sup>.

En la majoria de treballs s'utilitza sutura contínua amb fil monofilament per a l'anastomosi vascular. Aquest tipus de sutura contínua és preferible a la realització de punts separats donat que, a més de la seva estanqueïtat, al ser més ràpida de practicar permet reduir el temps d'isquèmia freda. Però també presenta l'inconvenient de que es tendeix a aplicar massa tensió a l'apretar el nus, quedant l'anastomosi amb un calibre menor del desitjat i augmentant el risc de trombosi.

En relació a l'anastomosi intestinal durant la interposició ortotòpica, només en dos animals es varen produir complicacions mortals, una deguda a oclusió i l'altre

deguda a dehiscència, el que representa un 4.87% dels animals trasplantats. Per evitar aquesta mena de complicacions, l'equip de Zhong recomana la realització d'aquesta anastomosi sobre una peça de macarró del calibre de la llum intestinal, el qual es trenca en finalitzar l'anastomosi i és absorbit posteriorment pel propi budell<sup>302</sup>.

Els animals que varen presentar complicacions mortals d'origen tècnic no varen sobreviure més enllà del quart dia postoperatori i varen ser substituïts a l'igual que es fa en atres treballs<sup>65</sup>.

Comparant la morbimortalitat global d'origen tècnic per grups, els animals trasplantats han presentat una major mortalitat que el grup control (Grup A), amb 16.66% en el cas del isotrasplantament (Grup B) i 17.39% per a l'alotrasplantament (Grup C). Aquests valors són inferiors als que presenten altres estudis, en els quals les dades oscil·len al voltant del 20-30%<sup>20,102,148</sup>.

Però si bé les complicacions tècniques han incidit de forma similar en els dos grups d'animals trasplantats, no ha estat així pel que fa a les complicacions d'origen sèptic, les quals només han afectat al grup d'alotrasplantament, sotmés a tractament immunosupressor. En aquest grup C s'han produït 2 morts, un per sèpsia amb abscessos renals i pulmonars i l'altre per peritonitis, el que representa el 4.87% de tots els animals trasplantats i el 8.69% del grup d'alotrasplantats. També en el grup C s'han registrat tres casos de pneumonia, els quals representen un 7.31% dels trasplantats i un 13.04 dels receptors d'alotrasplantament. La pneumonia no va arribar a produir la mort degut a que es va detectar en el moment del sacrifici.

La segona causa de complicacions en el grup de rates alotrasplantades és el rebuig, el qual ha causat la mort en dos ocasions, el que representa també un 4.87% de mortalitat entre els animals trasplantats i un 8.69% dels alotrasplantats. L'aparició de rebuig malgrat el tractament immunosupressor amb Ciclosporina A ha estat descrita per altres autors<sup>78,102,104</sup>, sobretot en relació amb l'aplicació de pautes curtes de tractament<sup>102,278</sup> i a la utilització de la via oral per a la seva administració<sup>29,108,112,157</sup>. En canvi, l'aplicació de pautes de 15mg/Kg/dia via IM durant 7 dies seguida de l'administració de la mateixa dosi a dies alterns durant 28 dies més, tal com la utilitzada al nostre estudi, sembla ser la més adequada per a la prevenció del rebuig

a la rata<sup>278</sup>. Els dos casos de rebuig observats es varen produir en les fases inicials de la experimentació, de forma que podria pensar-se en un defecte en l'administració del fàrmac com podria ser la injecció subcutània de la solució.

La revisió dels treballs en els quals la Ciclosporina A ha estat la base del tractament immunosupressor també mostra que, malgrat utilitzar el mateix animal, els resultats no han estat els mateixos segons les combinacions de soques donants i receptores<sup>4</sup>, ni tampoc en el cas d'animals més grans com el gos o el porc<sup>105,109</sup>, arribant a afirmar que aquest agent immunosupressor per si sol pot ser insuficient per a la prevenció indefinida del rebuig al budell trasplantat<sup>5,78</sup>.

En el nostre estudi, la diferència de morbimortalitat de causa no tècnica observada entre el grup d'animals isotrasplantats i els alotrasplantats ens fa coincidir amb altres autors en aquesta dificultat que presenta la Ciclosporina A pel control de la resposta immunològica al trasplantament intestinal, així com la seva incapacitat de preservar la funció de barrera immunològica dels elements immunocompetents intestinals front a les complicacions sèptiques. Tal incapacitat fa que els animals alotrasplantats no evolucionin de la mateixa forma que els isotrasplantats malgrat que, en teoria, el tractament immunosupressor hauria de permetre aquest fet.

#### 5.1.4. VARIACIONS DEL PES

Per a valorar les variacions en el pes dels animals, cal considerar com a períodes diferents la fase de trasplantament heterotòpic de la fase posterior a la interposició ortotòpica. Durant els 21 dies en els quals el budell es troba disposat en forma heterotòpica, les variacions de pes que s'han produït no depenen de la funcionalitat del budell trasplantat sinó que són a conseqüència de la resposta fisiològica a la intervenció quirúrgica. En canvi, després de la interposició ortotòpica, les variacions dependran parcialment de la capacitat funcional del budell trasplantat.

Durant els 21 dies de trasplantament en posició heterotòpica, l'evolució del pes que han presentat els animals dels tres grups ha estat similar, coincidint amb l'observat en altres estudis<sup>114,301,309,310</sup>. Però després de la interposició ortotòpica, hem

observat que mentre els animals del grup control i els isotrasplantats evolucionen de forma similar i arriben a recuperar el pes inicial al final de l'estudi, els animals alotrasplantats presenten una evolució més lenta, amb una pèrdua de pes progressiva que no sembla estabilitzar-se fins als darrers dies de l'estudi. Una evolució similar també ha estat descrita en altres treballs<sup>23,114,150</sup>.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL

Mercè Hernández i González

ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010

## 5.2. ALTERACIONS MORFOLOGIQUES

### 5.2.1. SISTEMA DE GRADACIO HISTOLOGICA

Malgrat els avantatges que suposa el sistema de gradació de l'estat micromorfològic dissenyat per l'equip de Pritchard i Sonnino<sup>297</sup> amb l'objectiu de poder establir un protocol de treball comú i vàlid per a tots els estudis de la micromorfologia del budell trasplantat, la majoria de treballs posteriors al seu disseny no l'apliquen<sup>187,309,311</sup>. Inclús s'estableixen altres sistemes de descripció de l'estat histològic basats en estadis evolutius<sup>15,304</sup>, o bé en altres formes pròpies de puntuació<sup>64,101</sup>.

En el nostre estudi, hem preferit aplicar-lo, si bé hem afegit modificacions quant a l'obtenció del valor numèric final. Tal modificació consisteix en dividir el valor 1 corresponent a la presència d'una determinada alteració pel nombre de camps de microscopi on s'ha observat.

Aquesta modificació respón al fet de que les seccions de budell examinades poden no ser representatives de l'estat general de la mucosa intestinal degut a que l'afectació produïda pel rebuig pot donar-se en forma parcel·laria<sup>15,157</sup>. Amb la modificació efectuada s'aporta major informació, ja que l'observació d'una determinada alteració en tots els camps de microscopi (10 sobre 10) significarà un grau d'afectació més important que quan només es limiti a un determinat nombre de camps (x sobre 10).

En no haver d'altres treballs que apliquin el mateix sistema de gradació histològica, les comparacions amb els estudis d'altres autors no poden basar-se en els valors numèrics obtinguts.

També per a obtenir un informació més descriptiva del grau d'afectació, el valor total de la puntuació obtinguda ha estat desdoblada en dos valors, un per a la zona corresponent a la superfície intraluminal i l'altre corresponent a la zona profunda de la paret intestinal. D'aquesta manera es pot conèixer quina porció de la paret intestinal es veu més afectada durant l'evolució postrasplantament.

### 5.2.2. VARIACIONS DE LES CARACTERÍSTIQUES MICROMORFOLÒGIQUES

En els diferents grups s'han produït variacions en el grau d'afectació histològica en relació al model experimental i al temps d'evolució.

Als 10 minuts de la revascularització, en el budell trasplantat (Grups B i C) s'han observat els efectes derivats de la isquèmia freda i el rentat vascular, és a dir, alteracions associades amb la tècnica quirúrgica del trasplantament<sup>278</sup>.

Els valors de les puntuacions corresponents a les estructures de la superfície intraluminal (vellositats i criptes) han estat superiors als relatius a la zona profunda (làmina pròpia i muscularis mucosae), amb valors de  $2.44 \pm 1.96$  i  $0.30 \pm 0.27$  respectivament (TAULES 35,36,41 i 42). Aquests valors assenyalen alteracions micromorfològiques localitzades fonamentalment a les vellositats, les quals han mostrat una forma discretament irregular a les puntes. A la zona profunda, s'ha observat la presència d'edema en algunes mostres a la làmina pròpia. Tals observacions correspondrien a la fase I d'afectació histològica post isquèmia i reperfusió segons la descripció donada per l'equip de Thaler i Margreiter<sup>304</sup>, i es relacionaria amb un període curt de preservació del budell. Aquestes alteracions també coincideixen amb les observades per altres autors<sup>63,64,65,101,304</sup>.

Als 7 dies, la valoració evolutiva de la micromorfologia del budell prim ha mostrat un grau d'afectació amb valors al voltant de 3.72 a 4.86 per a la superfície intraluminal i de 1.16 a la zona profunda. Aquest grau d'afectació de la superfície intraluminal ha estat més important en els grups de budell trasplantat que en el grup control, amb diferències estadísticament significatives ( $p \leq 0.05$ )(TAULA 47).

Quan es considera el valor numèric obtingut, el grau d'alteració histològica de la mucosa és similar en ambdues formes de trasplantament (TAULES 35,36 i 47), malgrat que la micromorfologia de les vellositats i criptes és diferent. Així, als 7 dies del isotrasplantament, les vellositats presenten una forma allargada i estreta mentre que en el budell alotrasplantat es mostren més curtes i amples. Tanmateix pot observar-se encara alguns signes d'alteració derivada de la tècnica quirúrgica com és la dilatació dels vasos limfàtics deguda a llur secció durant l'extracció del budell (FIGURA 36).

A la zona profunda de la paret intestinal, on les diferències entre els valors numèrics dels grups B i C tampoc no eren significatives (TAULA 52), s'observa que en algunes mostres de budell alotrasplantat apareix un nombre augmentat de cèl.lules limfoidals amb infiltrat cel.lular a la làmina pròpia, mentre que tal observació no es dóna en cas d'isotrasplantament, on els valors obtinguts provenen de la presència d'estasi vascular en aquesta zona.

Als 14 dies, mentre el budell prim del grup control mostra unes vellositats curtes i amples, el budell trasplantat dels grups B i C les mostra allargades i amples i amb certa dilatació a les criptes de Lieberkühn. Les zones profundes no mostren alteracions importants en aquests dos grups, amb puntuacions al voltant de 0 a 1.

Però en el cas de l'alotrasplantament, els valors de les puntuacions globals corresponents al seu estat histològic es van fent progressivament més elevats, a expenses d'alteracions observades tant a les estructures superficials com a les profundes, sobretot als 14 dies on s'estableixen diferències importants i estadísticament significatives entre l'iso i l'alotrasplantament (GRAFICA 6, TAULES 41,42,48 i 53).

Tals diferències entre la micromorfologia del budell iso i alotrasplantat es basen en la presència en aquest últim de l'infiltrat cel.lular a la làmina pròpia, el qual es pot observar amb més freqüència a mida que avança el temps.

Als 21 i 36 dies, en el budell isotrasplantat, les alteracions de la micromorfologia de les vellositats es mantenen estables i sense canvis evolutius estadísticament significatius (TAULA 38). La zona profunda arriba a adquirir una morfologia normal al final de l'estudi.

En canvi en el budell alotrasplantat, malgrat que si es consideren els valors numèrics no s'observen diferències estadísticament significatives a la superfície intraluminal (TAULA 39) ni a la zona profunda (TAULA 45), la micromorfologia va mostrant alteracions degeneratives. Les alteracions com la pèrdua cel.lular parcial i l'infiltrat extravascular, si bé s'expressen en el valor numèric obtingut, no estan presents a tots els talls observats microscòpicament.

Aquest comportament evolutiu diferent que mostren els dos tipus de

trasplantament en relació al seu aspecte micromorfològic ve donat per un origen també diferent de l'afectació de les estructures de la paret intestinal. Les alteracions micromorfològiques del budell isotrasplantat del Grup B són produïdes pels efectes del propi fet del trasplantament sobre la circulació limfàtica i l'inervació del budell, però no depenen de la resposta immunològica, en ser les dues rates donant i receptora immunogenèticament idèntiques.

En canvi, en el budell alotrasplantat recauen els efectes de la tècnica i els de la resposta immunològica unidireccional en forma de rebuig<sup>4,13</sup>.

Les alteracions morfològiques observades després de l'isotrasplantament coincideixen amb les descrites per estudis com el de Monchick i Russell<sup>11</sup> o el de Thiede i Deltz<sup>13</sup>, entre d'altres<sup>101,102</sup>, i afecten principalment les estructures de la superfície mucosa, amb una afectació mínima de les zones profundes.

La presència de cèl.lules linfoidals a la làmina pròpia del budell alotrasplantat també ha estat descrita per altres autors<sup>75,76,163</sup> atribuint-la a una resposta inflamatòria o bé a indicis de rebuig.

En els treballs de l'equip de Kirkman<sup>75,310</sup>, malgrat el tractament amb Ciclosporina A, la morfologia del budell trasplantat tampoc no s'ha mostrat completament normal. Les vellositats s'han presentat lleugerament escurçades i amples, sense lesions aparents a les cèl.lules absortives al microscopi òptic i amb un nombre important de cèl.lules limfoidals a la làmina pròpia.

En altres treballs, la micromorfologia del budell trasplantat s'ha mantingut intacta<sup>102,159,167,312</sup>.

La secció de la innervació extrínseca o del sistema autònom que requereix el trasplantament s'associa amb alteracions de la motilitat, absorció i secreció, però no sembla influir sobre la micromorfologia de la paret intestinal<sup>167,312</sup>.

Pel que fa a la micromorfologia del budell control en nansa de Thiry-Vella del grup A, les alteracions han estat fonamentalment un escurçament i eixamplament de les vellositats, acompanyat de dilatació de les criptes de Lieberkühn. Canvis similars han estat observats per Teitelbaum<sup>167</sup> i Watson<sup>163</sup>, sense coneixer quin és el significat de tal fet.

### 5.3. ESTUDI MORFOMETRIC

En realitzar les determinacions micromorfomètriques de les estructures de la mucosa intestinal es valoren d'una forma més objectiva els canvis observats a l'estudi micromorfològic. Amb aquestes determinacions es pot calcular el tamany de la superfície epitelial absortiva per tal de valorar la presència o no de variacions responsables d'alteracions en la capacitat d'absorció de nutrients del budell trasplantat.

#### 5.3.1. SISTEMES DE MESURAMENT

Els estudis on es realitzen determinacions micromorfomètriques de les estructures de la mucosa del budell prim trasplantat són molt poc freqüents. Degut a això, s'ha fet necessari dissenyar un mètode propi de mesura per tal de determinar el tamany de la superfície epitelial o àrea absortiva de la mucosa.

La mesura de l'alçada i amplada vellositàries han estat obtingudes directament mitjançant el sistema d'anàlisi d'imatges i basant-se en el mètode aplicat per Kirkman<sup>75</sup> i Schroeder<sup>160,164</sup>.

Abans de l'introducció dels sistemes informatitzats d'anàlisi d'imatges, la pràctica de tals determinacions requeria l'ús de micròmetres de platina o d'ocular, amb els quals s'obtenien un valors que requerien de càlculs complexes per a generar dades útils<sup>313</sup>.

Un estudi realitzat per l'equip de Carreras i Murillo<sup>314</sup>, va utilitzar seccions longitudinals i transversals del budell prim per a mesurar la superfície intraluminal de la mucosa intestinal. Amb aquests talls es va calcular el nombre de vellositats per unitat de superfície (villis/mm<sup>2</sup>), el valor del qual multiplicat pel procedent de la determinació geomètrica de la superfície mitjana per vellositat donava el valor de l'àrea de la superfície mucosa. En el nostre estudi, l'aplicació del sistema d'anàlisi d'imatges o morfòmetre ha simplificat els càlculs per a obtenir aquesta determinació.

La mesura de l'àrea o superfície epitelial absortiva pot utilitzar-se pel coneixement de l'estat funcional del budell quan es considera en relació a les dades obtingudes de les proves d'absorció de glucosa i aigua. L'establiment d'aquesta

relació pot donar una idea més aproximada de l'estat funcional del budell prim que les determinacions efectuades en altres treballs en els quals els valors obtinguts de les provés d'absorció només es valoren en relació a la llargada del budell trasplantat (Mol/cm) o al temps de duració de la prova ( $\mu\text{g}/\text{min}$ ), sense tenir en compte altres paràmetres morfomètrics<sup>101,161,163,164</sup>.

### 5.3.2. VARIACIONS MICROMORFOMETRIQUES

Als 10 minuts de la reperfusió, en el budell trasplantat dels grups B i C s'observa un increment de l'alçada, amplada i superfície absorbiva per vellositat, el qual no presenta diferències estadísticament significatives ( $p \geq 0.05$ ) amb els valors mostrats a les mostres de budell prim obtingudes prèviament al trasplantament (TAULES 63,64,66,67,69 i 70). Aquestes observacions morfomètriques no han estat descrites per altres autors, però d'elles es desprèn que els efectes de l'isquèmia i reperfusió relacionats amb la tècnica quirúrgica no produeixen variacions micromorfològiques en les estructures ni en el tamany de la superfície epitelial absorbiva en el període immediat al trasplantament.

Posteriorment, als 7, 14 i 21 dies, les determinacions morfomètriques de la mucosa intestinal mostren una evolució diferent entre el budell control del grup A i el budell trasplantat dels grups B i C.

Entre els 7 i 14 dies s'observa una reducció progressiva en l'alçada vellositària en els tres grups (GRAFICA 7).

En el budell trasplantat, el tamany de la superfície epitelial absorbiva presenta una reducció progressiva i estadísticament significativa en aquest interval de temps (GRAFICA 12), mentre que en el budell control aquest paràmetre mostra una tendència a l'increment. Aquest increment es dóna en el grup control a expenses d'un augment del diàmetre intestinal (GRAFICA 10), el qual no s'observa en els grups de budell trasplantat. La influència del diàmetre sobre el tamany de la superfície epitelial absorbiva ve confirmada per l'anàlisi de correlació entre paràmetres morfomètrics (TAULA 152).

Aquestes observacions en relació a l'alçada vellositària i superfície o àrea epitelial absortiva coincideixen amb les obtingudes per l'equip de Lear i Watson<sup>161,163</sup>, el qual les atribueix a l'atròfia consegüent a la disposició del budell fora del trànsit digestiu.

Però entre els 14 i 21 dies, sense que encara s'hagi interposat el budell en continuïtat amb el trànsit digestiu, s'ha observat una tendència a l'increment dels valors de la superfície epitelial absortiva en tots els grups (GRAFICA 12), sense que s'hagin observat diferències estadísticament significatives en el temps (TAULES 77,78 i 79) ni entre els grups (TAULES 108 i 109).

Aquesta tendència a recuperar els valors morfomètrics inicials o del budell normal cap al final de l'estudi (36 dies) es mostra en tots els grups en relació a la superfície absortiva per vellositat i a la superfície epitelial absortiva, però en relació als altres paràmetres s'observen diferències entre els grups. Així, el budell control del grup A no arriba a recuperar els valors inicials de l'amplada vellositària ni del diàmetre, els quals presenten valors superiors, i el budell isotrasplantat tampoc recupera el valor inicial de llur alçada vellositària.

No tenim dades d'altres autors per a comparar les obtingudes en el nostre estudi.

Valorant aquesta manca de recuperació dels valors inicials de l'alçada vellositària en el budell isotrasplantat als 36 dies en comparació al l'evolució del budell alotrasplantat, en alguns treballs s'ha suggerit una possible influència de la Ciclosporina A sobre la regeneració cel.lular dels enteròcits<sup>315</sup>. Però els mecanismes pels quals la Ciclosporina A podria induir la regeneració cel.lular no es coneixen, si bé es postula sobre una participació de les cèl.lules del sistema immunitari les quals, en veure's influenciades per la Ciclosporina A actuarien mitjançant processos enzimàtics per a iniciar la resposta regenerativa<sup>316</sup>. Però no és possible confirmar aquest fet a partir de les nostres dades, ni tampoc existeixen treballs anteriors on es valori l'actuació de la Ciclosporina A sobre la regeneració dels enteròcits.

Quant a la diferent evolució dels valors que pren el diàmetre en el budell control del grup A respecte al budell trasplantat, podria considerar-se que tal

diferència ve donada per una diferent inervació. El budell control manté la inervació extrínseca o del sistema nerviós autònom de la qual careix el budell trasplantat, en seccionar-se aquesta durant llur extracció<sup>317</sup>.

El fet de que al final de l'estudi no s'observin diferències estadísticament significatives en el tamany de la superfície epitelial absortiva entre el budell trasplantat i el budell normal suggereix que en cas de produir-se defectes en l'absorció de nutrients, tal incapacitat no depèn d'una reducció en la superfície absortiva, sinò que cal trobar altres causes per explicar aquesta incapacitat.

Aquesta observació també confirma la teoria d'alguns autors que consideren que la integritat de la micromorfologia del budell trasplantat pot no ser representativa de la mateixa integritat de la capacitat funcional<sup>176,102,155,163,167,312</sup>.

## 5.4. ALTERACIONS FUNCIONALS

### 5.4.1. ABSORCIO DE GLUCOSA I AIGUA

Les proves funcionals mostren comportaments evolutius diferents entre els grups.

Durant tot el període d'estudi, la quantitat de glucosa absorvida per unitat de superfície mucosa ( $\mu\text{Mol}/\text{cm}^2$ ) es manté en uns nivells superiors en el budell control del Grup A que en els dos grups de budell trasplantat (GRAFICA 15). El mateix passa pel que fa a l'absorció d'aigua. Però les variacions són diferents segons es tracti d'un o d'altre element (GRAFQUES 13 i 14). En el budell control del Grup A, fins als 14 dies s'observa un descens progressiu en l'absorció d'aigua per unitat de superfície, mentre que l'absorció de glucosa va augmentant progressivament. Entre els 14 i 21 dies, la quantitat d'aigua que es difon continua disminuint encara que d'una forma més lenta que l'absorció de glucosa els nivells de la qual baixen més brusquement. Posteriorment a la interposició ortotòpica, es produeix un increment en l'absorció d'ambdós elements fins arribar a valors semblants als inicials i sense diferències estadísticament significatives (GRAFQUES 13,14 i 15, TAULES 113 a 121).

En el budell trasplantat dels grups B i C, l'evolució en l'absorció de glucosa i aigua és similar en les dues formes d'iso i d'alotrasplantament, però diferent a l'observada pel budell control en nansa de Thiry-Vella (TAULES 122 a 129). En les fases inicials i fins als 14 dies es produeix un increment en les quantitats absorvides tant de glucosa com d'aigua, però posteriorment a aquest període, la tendència és absorbir progressivament menys, sense que la interposició ortotòpica sembli interferir sobre aquest fet. Aquests resultats coincideixen amb els observats per Hatcher<sup>101</sup> i Watson<sup>163</sup>.

Segons Schroeder<sup>164</sup> les variacions que es produeixen mentre el budell es troba disposat heterotòpicament depenen de canvis de tipus atròfic a les estructures de la mucosa intestinal. En el nostre estudi, tot prenent com a referència l'alçada vellositària, s'ha observat que mentre aquesta tendeix a reduir-se fins als 14 dies (GRAFICA 8), l'absorció de glucosa i d'aigua s'incrementen progressivament en els dos grups de budell trasplantat (GRAFQUES 13, 14 i 15), la qual cosa aniria en

contra de l'opinió de Schroeder. Però, en canvi, en períodes de temps posteriors, el fet d'observar-se una reducció en l'absorció de glucosa malgrat que el tamany de l'àrea d'absorció epitelial recuperi els seus valors inicials després de la interposició ortotòpica suggereix, tal com fa el mateix Schroeder, que la superfície epitelial no és tant important per a l'absorció com l'estat funcional de les cèl.lules absortives<sup>164</sup>.

#### 5.4.2. EFECTES DE LA ISQUEMIA I REPERFUSIO SOBRE L'ABSORCIO

En general, quan el període d'isquèmia no ha sobrepassat els sixty minuts, les alteracions que es puguin produir són reversibles i llur expressió histològica i funcional no hauria de manifestar-se més enllà dels 7 dies<sup>304,312,163,318</sup>. Però en el nostre estudi els defectes d'absorció persisteixen i es fan més importants a mida que avança el temps postrasplantament.

El nostre estudi no aporta dades referents a l'activitat funcional de la mucosa intestinal post-isquèmia i reperfusió en relació a l'activitat enzimàtica de la vora en raspall<sup>319</sup>, ni a canvis hemodinàmics de la microvascularització<sup>56</sup> responsables d'alteracions funcionals, però donat que el temps d'isquèmia freda mitjà ha estat només d'uns 48 minuts i que les alteracions micromorfològiques relacionades amb els efectes de la isquèmia-reperfusió no s'observen més enllà dels 7 dies postrasplantament, considerem, tot coincidint amb Watson<sup>163</sup>, que les variacions detectades en l'absorció no són un resultat directe d'aquest fenomen sinó que depenen d'altres factors.

#### 5.4.3. DENERVACIO I FUNCIO ABSORTIVA

El trasplantament de budell prim comporta la denervació extrínseca o del sistema autònom i l'afectació del sistema intrínsec o entèric consegüent a la secció de la paret intestinal.

Els resultats obtinguts en el nostre treball mostren un comportament funcional diferent entre el budell control i el budell trasplantat que coincideix amb les

observacions de Watson<sup>163</sup> i, més recentment, amb les de Ishii<sup>312</sup>. Aquests autors consideren que la reducció en l'absorció de glucosa, aigua i electrolits no prové d'alteracions relacionades amb fenòmens immunològics, donat que l'evolució és semblant entre l'iso i l'alotrasplantament, sinó que estaria originada sobretot per la denervació extrínseca del budell. Tal afirmació ve recolçada pel fet ja assenyalat de que els nivells d'absorció tant de glucosa com d'aigua es mantenen més elevats en el grup control, on el budell disposat en nansa de Thiry-Vella manté íntegra la seva inervació extrínseca.

Malgrat que la influència de la denervació extrínseca i intrínseca sobre la modulació de l'absorció d'aigua, electrolits i nutrients ha estat valorada en nombrosos estudis, no són encara ben coneguts els mecanismes que controlen aquestes reaccions<sup>320</sup>.

L'afectació funcional derivada de la denervació que apareix després del trasplantament del budell prim també el diferencia del trasplantament d'altres òrgans com són els ronyons, fetge, cor o pàncreas en els quals la denervació no implica alteracions per al desenvolupament de llur funció.

El descens en la capacitat d'absorció d'aigua observat en el budell control del grup A del nostre estudi, en el qual la inervació autònoma està preservada, és contrari a les idees de Watson<sup>163</sup> segons les quals la denervació extrínseca produiria un augment de la secreció de Clor i una disminució de l'entrada de fluid a la mucosa, concretament a les criptes de Lieberkühn. Segons Watson, l'activitat de les criptes en condicions normals estaria controlada molt directament pel sistema nerviós autònom, mentre que l'activitat absortiva de les vellositats, on s'absorvirien els nutrients com la glucosa, no estaria influïda tan intensament per aquesta forma d'inervació, participant altres factors sobre ella.

Però els efectes de la denervació extrínseca mostren resultats diferents segons l'animal utilitzat i inclús hi ha controvèrsies malgrat l'utilització de models experimentals similars. A la rata, Teitelbaum<sup>167</sup> conclueix que la denervació extrínseca en l'isotrasplantament ve associada a una pèrdua transitòria de la capacitat d'absorció d'aigua i sodi, la qual es normalitza completament als 8 dies del trasplantament. Tal

observació coincidiria amb els nostres resultats donat que la primera determinació de l'absorció d'aigua es realitza als 7 dies postrasplantament, període en el qual és possible una certa recuperació de l'activitat adrenèrgica<sup>317</sup>, si bé no tenim dades per demostrar-la.

En relació a l'absorció de glucosa, la menor influència del sistema nerviós autònom sobre l'absorció de nutrients a les vellositats afirmada per Watson<sup>163</sup>, es podria valorar com un dels factors en favor dels resultats obtinguts al nostre estudi.

Pel que fa a la influència de la motilitat intestinal sobre l'absorció, aquesta es veu afectada tant per la denervació extrínseca com per la secció de la inervació entèrica de la musculatura llisa de la paret intestinal<sup>321,322</sup>. A la rata, després del trasplantament l'activitat mioelèctrica pot detectar-se als dos dies, però no és manifesta macroscòpicament visible fins passats almenys 11 dies<sup>4,322</sup>. En el nostre treball, hem pogut observar la presència de peristaltisme en el budell trasplantat heterotòpicament als 14 dies postrasplantament.

Però si els efectes de la denervació extrínseca i intrínseca són reversibles amb el temps<sup>102,171,241,321</sup>, no queda justificada la depressió progressiva observada en l'absorció de glucosa i aigua que ha mostrat el nostre estudi i que coincideix amb l'observada també a llarg termini per altres autors tant a la rata com a d'altres animals<sup>96,322,323,324,325</sup>.

#### 5.4.4. INTERRUPTIO LIMFÀTICA I ABSORCIO

La regeneració del flux limfàtic és important no sols per a l'absorció de lípids, sinò també perquè la presència d'estasi limfàtic pot dificultar l'absorció de nutrients no-limfàtic depenents com serien proteïnes i carbohidrats, a més de comprometre la microvascularització de la mucosa.

En el nostre estudi, la dilatació dels limfàtics no es detecta microscòpicament després dels 7 dies postrasplantament, de forma que el defecte d'absorció de glucosa i aigua no sembla dependre de l'afectació de la circulació limfàtica.

Un fet observat en alguns treballs és que l'absorció de lípids és inferior després

de l'alotrasplantament en animals tractats amb Ciclosporina A, la qual cosa ha suggerit que la Ciclosporina A podria reduir la capacitat de regeneració limfàtica, sense quedar clar si aquest és un efecte tòxic específic per a la Ciclosporina A o bé es dóna simplement en relació a la immunosupressió<sup>170</sup>.

#### 5.4.5. RESPOSTA IMMUNOLOGICA I FUNCIO ABSORTIVA

La tendència a la disminució en l'absorció de glucosa en el budell trasplantat (GRAFICA 14) durant fases avançades postrasplantament no pot explicar-se pels efectes de la isquemia-reperfusió, ni de la denervació. En el cas del alotrasplantament, aquesta disminució pot ser explicada pels efectes del rebuig i per una possible toxicitat de la Ciclosporina A sobre el budell prim.

La presència d'un nombre augmentat de limfòcits a la làmina pròpia del budell alotrasplantat que s'ha observat ja des dels 7 dies postrasplantament coincideix amb les observacions de Oberhuber i Margreiter<sup>279,326</sup>, els quals l'atribueixen a un signe inicial de rebuig malgrat el tractament immunosupressor amb Ciclosporina A.

En el nostre estudi, si bé l'absorció de glucosa i aigua decreix després dels 14 dies tant en l'iso com en l'alotrasplantament, els nivells són inferiors en aquest últim. Tal fet podria estar relacionat amb efectes tòxics de la Ciclosporina A<sup>60</sup>.



## 5.5. INTERPRETACIO DE L'ANALISI DE CORRELACIO

L'anàlisi de correlació i regressió ha evidenciat una manca de relació entre les dades obtingudes de la valoració de l'estat micromorfològic de la mucosa intestinal i les proves d'absorció. Aquesta manca de dependència estadísticament significativa ( $r \leq 0.44$ ) entre les puntuacions obtingudes a la superfície intraluminal i l'absorció de glucosa i aigua en tots els grups (TAULES 134 a 139) no fa més que confirmar la manca de relació entre l'aspecte micromorfològic al microscopi òptic i la capacitat funcional de la mucosa intestinal afirmat per alguns autors<sup>76,102,155,163,167,312</sup>.

Quant a l'establiment de relacions entre paràmetres morfomètrics i funcionals, mentre que els budell control i isotrasplantat es comporten de forma similar i no evidencien relacions de dependència estadísticament significativa entre l'absorció de glucosa i el tamany de la superfície epitelial absorbent ( $r \leq 0.44$ , TAULES 140 i 141), en el budell alotrasplantat sí que s'estableix aquesta relació ( $r \geq 0.45$ , TAULA 142).

El tamany de la superfície epitelial i la difusió d'aigua tampoc no han mostrat relacions de dependència estadísticament significatives en cap dels grups ( $r \leq 0.44$ , TAULES 143 a 145).

No disposem de dades d'altres autors per a poder comparar els resultats obtinguts.



## 5.6. ALTERACIONS ULTRAESTRUCTURALS

En general, per a detectar alteracions al budell trasplantat, els exàmens de les mostres es realitzen amb el microscopi òptic convencional donada la simplicitat que representa el processament histològic. Es per aquest motiu que els estudis de la ultraestructura de les cèl·lules de la mucosa del budell trasplantat són poc freqüents.

L'aplicació de la Microscopia Electrònica de Scanning, en observar només la superfície intraluminal de la mucosa, permet valorar parcialment l'aspecte en conjunt de la porció apical de les microvellositats, però no pot detectar alteracions cel·lulars sinó és que aquestes siguin importants.

Els estudis sobre l'evolució del budell trasplantat realitzats pels equips de Lear<sup>161</sup> i T.Yamataka<sup>311</sup> en els quals s'utilitza la Microscopia Electrònica de Scanning, no varen detectar alteracions a la vora de microvillis, tot considerant que els resultats obtinguts eren similars a les observacions procedents de la microscopia òptica convencional.

En canvi, quan aquesta tècnica s'ha aplicat per a valorar l'estat de la superfície epitelial després del període d'isquèmia i reperfusió, Lee i el seu equip<sup>64</sup> varen poder observar edema i ruptura de les microvellositats, tot quedant exposada la làmina pròpia, essent aquestes observacions també compatibles amb les dades aportades per la microscopia òptica i les determinacions morfomètriques.

Els resultats mostrats pels estudis on s'utilitza la Microscopia Electrònica de Transmissió per a realitzar una valoració més completa de l'estat cel·lular no són comparables entre sí degut a que s'observen aspectes diferents de la mucosa intestinal. L'estudi de Tait et al<sup>33</sup> observa l'estat dels enteròcits aïllats i en cultiu per tal de valorar llur viabilitat previament al seu trasplantament sobre una porció de la paret intestinal denudada de mucosa, mentre que l'equip de Bass et al<sup>31</sup>, observa l'evolució del budell prim fetal després del seu trasplantament.

Per tal de poder comparar les dades obtingudes en el nostre estudi, només es disposa de l'experiència de A.Yamataka i el seu equip<sup>327</sup> les observacions de la qual són equivalents a les nostres pel que fa a la morfologia de les microvellositats en el budell alotrasplantat. Segons A.Yamataka, tals alteracions són degudes als efectes

del rebuig i es detecten a partir del 8é dia postrasplantament.

Considerant aquesta alteració de les microvellositats i les observacions realitzades en altres estudis segons les quals els primers efectes del rebuig recauen sobre les cèl.lules endotelials i sobre les del epitel·li de les criptes, es pot pensar que els canvis en les microvellositats podrien també ser considerats com un dels primers signes de rebuig.

Aquesta alteració de les microvellositats no pot ser valorada com un efecte de les reaccions d'isquèmia i reperfusió donat que en l'estudi de Yamataka<sup>327</sup> no es detecta a les mostres obtingudes als 2 i 4 dies del trasplantament.

Quant a les altres alteracions ultraestructurals observades al nostre estudi, si bé no disposem d'altres estudis per a comparar-les, poden ser valorades en quant al seu possible origen i també en relació a les alteracions funcionals a que poden donar lloc.

Els vacúols citoplasmàtics no electrondensos presents als enteròcits no poden ser consegüents a la resposta immunitària, ja que es donen per igual en ambdues formes de trasplantament.

Aquesta presència de vacúols citoplasmàtics també s'ha descrit en fases inicials postrasplantament en relació a la preservació amb solució d'Eurocollins<sup>304</sup>, però no quan s'utilitzen altres solucions. Es difícil considerar aquests vacúols com un efecte derivat de l'isquèmia i reperfusió ja que no es detecten amb la microscopia òptica en fases més temperanes.

Malgrat que aquests vacúols poden participar en processos d'absorció o transport intracel·lular de substàncies, la importància de la seva presència rau en que quan es localitzen en el citoplasma adjacent a la membrana cel·lular lateral, poden arribar a deformar l'espai intercel·lular (FIGURA 41). La deformació d'aquesta zona pot afectar els processos relacionats amb l'absorció sobre tot d'aigua i electròlits<sup>291</sup>.

Tanmateix, els canvis en la morfologia dels microvillis poden afectar l'absorció de nutrients.

La detecció de lesions a les mitocòndries dels enteròcits del budell prim isotrasplantat pot ser deguda només a un defecte de la tècnica histològica, si bé cal

considerar que aquestes microestructures també mostren un tamany més gran que el que s'observa a les mostres del budell alotrasplantat i de budell normal.

Una justificació semblant podria donar-se en relació a les característiques observades en el reticle endoplasmàtic.

Però en el cas que aquestes alteracions no depenguessin de defectes de processament histològic, podrien relacionar-se amb la disminució de la capacitat absorbent del budell trasplantat en estar implicades en alteracions de processos enzimàtics necessaris per a l'absorció de nutrients<sup>328</sup>.

La detecció d'alteracions a l'ultraestructura cel·lular dels enteròcits suggereix la necessitat de complementar l'estudi al microscopi òptic amb l'observació al microscopi electrònic de transmissió, sobretot quan no existeix una relació lògica entre les dades clíniques i les aportades per l'exàmen anatomopatològic.



## 5.7. ANALISI GLOBAL DELS RESULTATS

Durant les fases inicials postrasplantament i fins els 7 dies, les alteracions de la micromorfologia del budell trasplantat depenen dels efectes de la isquèmia i reperfusió i de la secció dels vasos limfàtics i afecten fonamentalment la superfície intraluminal de la mucosa intestinal (vellositats i criptes).

En períodes més avançats, el comportament del budell iso i alotrasplantat es diferent. Mentre que en el budell isotrasplantat la micromorfologia de la paret intestinal tendeix a adquirir llurs característiques normals o inicials, en el budell alotrasplantat s'observen alteracions sobre tot a les zones profundes de la mucosa intestinal (làmina pròpia i muscularis mucosae). La presència de cèl.lules limfoidals en aquestes zones significa un origen immunològic d'aquestes alteracions.

Durant els períodes inicials, mentre s'observen micromorfològicament els efectes de la tècnica quirúrgica sobre la mucosa intestinal, les determinacions morfomètriques de les estructures de la superfície absorbiva no evidencien variacions en llur tamany, signe de que els efectes de la tècnica quirúrgica quant a isquèmia i reperfusió i secció dels vasos limfàtics no afecten el tamanyu de la superfície absorbiva intestinal.

Posteriorment, després dels 14 dies, els valors micromorfomètrics evolucionen cap als inicials, sense diferències estadísticament significatives entre els valors obtinguts del budell normal i els del budell trasplantat al final de l'estudi.

Pel contrari, les determinacions funcionals evidencien una incapacitat progressiva per a l'absorció de glucosa ja des de períodes inicials, sense que aquesta evolució pugui correlacionar-se estadísticament amb l'evolució favorable que mostren les estructures de la superfície absorbiva, la qual ve reflexada en els paràmetres morfomètrics.

Quan es valoren les característiques ultraestructurals de les cel.lules de l'epiteli intestinal, s'observen alteracions que poden relacionar-se amb una fallada de la funció absorbiva. La deformació a la membrana de les microvellositats, la presència de vacúols al citoplasma adjacent a l'espai intercel.lular, així com les lesions de la membrana mitocondrial poden ser responsables d'alteracions en els processos de

**transport cel.lular d'aigua, electrolits i nutrients.**

## **6. CONCLUSIONS**



## **6. CONCLUSIONS**

Després de l'anàlisi dels resultats obtinguts en aquest treball, creiem que es pot arribar a les conclusions següents:

### **6.1. CONCLUSIO PRIMERA**

Els efectes derivats de la tècnica quirúrgica del trasplantament quant a isquèmia i reperfusió afecten fonamentalment la micromorfologia de les estructures de la superfície intraluminal i són absolutament reversibles després de 7 dies.

### **6.2. CONCLUSIO SEGONA**

La tècnica quirúrgica del trasplantament de budell prim no ha produït canvis significatius en la capacitat absorbiva.

### **6.3. CONCLUSIO TERCERA**

Les alteracions micromorfològiques derivades dels efectes de la tècnica quirúrgica no es reflecteixen en variacions micromorfomètriques de la superfície epitelial absorbiva.

### **6.4. CONCLUSIO QUARTA**

En els models d'iso i alotrasplantament utilitzats, l'estudi morfomètric de la superfície epitelial absorbiva a llarg plaç no ha mostrat diferències estadísticament significatives respecte a la que presenta el budell normal.

### **6.5. CONCLUSIO CINQUENA**

La capacitat absorbiva mesurada amb la prova d'absorció de glucosa ha mostrat diferències significatives entre el grup control i els grups de budell trasplantat. No s'han observat diferències entre els dos grups de trasplantament.



## **6.6. CONCLUSIO SISENA**

En el budell trasplantat es produeix una tendència progressiva a la disminució de la capacitat per a l'absorció de glucosa i aigua.

## **6.7. CONCLUSIO SETENA**

Les correlacions de la funció absortiva amb el tamany de la superfície epitelial no han demostrat dependència estadística en els grups control i de budell isotrasplantat. Si ha existit correlació significativa en el grup de budell alotrasplantat.

## **6.8. CONCLUSIO VUITENA**

En el grup de budell alotrasplantat, l'estudi ultraestructural ha mostrat alteracions a les microvellositats, retícle endoplasmàtic i mitocòndries que explicarien la insuficiència absortiva d'aquest grup experimental.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL

Mercè Hernández i González

ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010

## **7. BIBLIOGRAFIA**



## 7. BIBLIOGRAFIA

- 1 **LILLEHEI RC, GOOTT B, MILLER FA.:** The physiological response of the small bowel of the dog to ischemia including prolonged in vitro preservation of the bowel with successful replacement and survival. *ANN SURG* 1959; 150(4):543-560.
- 2 **NORDGREN S, COHEN Z.:** Intestinal transplantation: surgical techniques in animals an man. En DELTZ E, THIEDE A, HAMELMANN H: *Small Bowel Transplantation. Experimental and clinical fundamentals.* Ed. Springer-Verlag. Berlin, 1986; pg:172-181.
- 3 **BOREL JF, FEURER C, GUBLER HU, et al.:** Biological effects of cyclosporin A: a new antilymphocytic agent. *AGENTS ACTIONS* 1976; 6:468-475.
- 4 **DE BRUIN RWF, HEINEMAN E, MARQUET RL.:** Small bowel transplantation: an overview. *TRANSPL INT* 1994; 7:47-61.
- 5 **MARGREITER R.:** Impact of Cyclosporine on organ transplantation. *TRANSPLANT PROC* 1991; 23(4):2180-2182.
- 6 **LILLEHEI RC, MANAX WG, LYONS GW, et al.:** Transplantation of gastrointestinal organs including small intestine. *GASTROENTEROLOGY* 1966; 51:936-948.
- 7 **LILLEHEI RC, GOOTT B, MILLER FA.:** Homografts of the small bowel. *SURGICAL FORUM* 1959; 10:197-201.
- 8 **HARDY MA, QUINT J, COHEN WB, et al.:** C<sup>14</sup> D-Glucose absorption in heterotopic jejunal allografts. *GASTROENTEROLOGY* 1968; 54:1295.
- 9 **PRESTON FW, MACALALAD F, WACHOWSKI TJ, et al.:** Survival of homografts of the intestine with and without immunosuppression. *SURGERY* 1966; 60(6):1203-1210.
- 10 **HARDY MA, QUINT J, STATE D.:** The effect of antilymphocyte serum and other immunosuppressive agents on canine jejunal allografts. *ANN SURG* 1970; 171:51-60.
- 11 **MONCHIK GJ, RUSSELL PS.:** Transplantation of small bowel in the rat: Technical and immunological considerations. *SURGERY* 1971; 70(5):693-702.
- 12 **PREISSNER WCh, SCHROEDER P, GUNDLACH M, et al:** Microsurgical techniques of heterotopic and orthotopic small bowel transplantation in the rat. En DELTZ E, THIEDE A, HAMELMANN H: *Small Bowel Transplantation. Experimental and clinical fundamentals.* Ed. Springer-Verlag. Berlin, 1986; pg. 2-6.
- 13 **THIEDE A, DELTZ E.:** Morphological reaction in transplanted small intestines using immunogenetically defined rat strain combination. *LANGENBECKS ARCH CHIR* 1978; 346:119-127.
- 14 **MARKOWITZ J, ARCHIBALD J, DOWNIE HG.:** Fístulas intestinales: yeyunostomia. En MARKOWITZ J, ARCHIBALD J, DOWNIE HG.: *Cirugia experimental y fisiologia quirúrgica.* Ed. Interamericana. México, 1967; pg. 137-156.

- 15 **TOYAMA N, KOBAYASHI E, KAMADA N, et al.:** Small bowel transplantation in rats: endoscopic and histological evaluation of graft rejection. *GASTROENTEROL JPN* 1993; 28:209-217.
- 16 **ROTTMAN N, MICHOT F, HAY JM, et al.:** Lymphatic regeneration following intestinal transplantation in the pig. En DELTZ E, THIEDE A, HAMELMANN H: *Small Bowel Transplantation. Experimental and clinical fundamentals*. Ed. Springer-Verlag. Berlin, 1986; pg:34-36.
- 17 **LIU H, TERAOKA S, NOZAWA M, et al.:** Successful lymphangiographic investigation of mesenteric lymphatic regeneration after orthotopic intestinal transplantation in rat. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1113-1114.
- 18 **SCHROEDER P, GUNDLACH M, SCHWEIZER E, et al.:** Small bowel transplantation. *MICROSURGERY* 1990; 11:296-299.
- 19 **PRITCHARD TJ, KOLTUN WA, MADARA JL, et al.:** Small bowel transplantation in the pig. En DELTZ E, THIEDE A, HAMELMANN H: *Small Bowel Transplantation. Experimental and clinical fundamentals*. Ed. Springer-Verlag. Berlin, 1986; pg:26-33.
- 20 **LEE KKW, SCHRAUT WH.:** Small bowel transplantation in the rat: graft survival with heterotopic versus orthotopic position. En DELTZ E, THIEDE A, HAMELMANN H: *Small Bowel Transplantation. Experimental and clinical fundamentals*. Ed. Springer-Verlag. Berlin, 1986; pg:7-13.
- 21 **LEAR PA.:** Experimental models in small bowel transplantation. *TRANSPLANT PROC* 1990; 22(6):2441-2442.
- 22 **BOILLOT O.:** Etat actuel et perspectives en transplantation intestinale. *ANN GASTROENTEROL HEPATOL* 1992; 28(2):85-91.
- 23 **SCHRAUT WH, ABRAHAM VS, LEE KK.:** Portal versus caval venous drainage of small bowel allografts: technical and metabolic consequences. *SURGERY* 1986; 99(2):193-198.
- 24 **LIU H, TERAOKA S, NOZAWA M, et al.:** Long-term survival of porto-portal venous drainage in rats with small bowel transplantation. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1071-1072.
- 25 **TAKANO K, KOSI M, THOMAS D, et al.:** A miniature swine model for intestinal transplantation. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1081-1082.
- 26 **THOMSON AW, SEWELL HF.:** Rejection, the immune response, and the influence of Cyclosporin A. En CATTO GRD.: *Clinical Transplantation: current practice and future prospects*. Ed.MTP Press Limited. Manchester, 1987; pg:125-154.
- 27 **TAGUCHI T, HIRATA Y, HIROSE R, et al.:** Short segmental intestinal transplantation in rats: functional comparison of jejunal and ileal grafts. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1079-1080.
- 28 **KIMURA K, MONEY SR, JAFFE BM.:** The effects of size and site of origin of intestinal grafts on small bowel transplantation in the rat. *SURGERY* 1987; 101:618-622.

- 29 **COLLIN J, DENNISON AR, WATKINS RM, et al.:** Segmental small intestinal allografts. Inadequate function with cyclosporine immunosuppression: evidence of a protein-losing enteropathy. *TRANSPLANTATION* 1987; 44:479-483.
- 30 **ZINZAR SN, LEITINA BI, TUMYAN BG, et al.:** Very large organ-like structures formed by syngeneic foetal alimentary tract transplanted as a whole or in parts. *REV EUROPE ETUDES CLIN ET BIOL* 1971; 16:455-458.
- 31 **BASS B, SCHWEITZER EJ, HARMON JW, et al.:** Anatomic and physiologic characteristics of transplanted fetal rat intestine. *ANN SURG* 1984; 200:734-741.
- 32 **OGASA N, MAEDA K, NAKAMURA K, et al.:** Successful transplantation of newborn rat intestine as a free graft. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1065-1066.
- 33 **TAIT IS, FLINT N, EVANS GS, et al.:** Progress with small bowel enterocyte culture and transplantation. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1061-1064.
- 34 **CAMPBELL FC, TAIT IS, FLINT N, et al.:** Transplantation of cultured small bowel enterocytes. *GUT* 1993; 34(9):1153-1155.
- 35 **HE G, ZHONG R, SAKAI Y, et al.:** Surgical technique for combined liver-intestine transplantation in the rat. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1067.
- 36 **SCHMID T, THALER W, OBERHUBER G, et al.:** Pattern of rejection after multivisceral transplantation in stomach, small bowel, and pancreas. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1215-1216.
- 37 **XIAN-CHANG L, ZHONG R, HE G, et al.:** Host immune suppression after small bowel/liver transplantation in rats. *TRANSPL INT* 1994; 7:131-135.
- 38 **BALEN E, CIENFUEGOS JA, PARDO F, et al.:** Multivisceral upper-abdominal allotransplantation in the pig. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1211-1213.
- 39 **ROSSI G, GRIDELLI B, COLLEDAN M, et al.:** Multivisceral abdominal allotransplantation in pigs: Small bowel aspects. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1214.
- 40 **ERICZON BG, KUBOTA K, GROTH CG, et al.:** Pancreaticoduodenal allotransplantation with FK506 in the cynomolgus monkey. *TRANSPLANT PROC* 1990; 22(Suppl.1):72-73.
- 41 **GRANT D, WALL W, MIMEAULT R, et al.:** Successful small-bowel/liver transplantation. *LANCET* 1990; 335:181-184.
- 42 **MURASE N, DEMETRIS AJ, FURUYA T, et al.:** Comparison of the small intestine after multivisceral transplantation with the small intestines transplanted with portal or caval drainage. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1143-1144.
- 43 **LI X, ZHONG R, HE G, et al.:** Host immunosuppression after combined liver/intestine transplantation in the rat. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1206-1207.
- 44 **SARNACKI S, CERF-BENSUSSAN N, REVILLON Y, et al.:** Long-term small bowel graft survival induced by spontaneously tolerated liver allografts in inbred rat strains. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1210.

- 45 **KOBAYASHI E, KAMADA N, ENOSAWA S, et al.:** Liver transplantation regulates a Graft-Versus-Host Reaction in the rat. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1204-1205.
- 46 **ZHONG R, HE G, SAKAI Y, et al.:** The effect of donor-recipient strain combinations in combined liver/intestine transplantation in the rat. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1208-1209.
- 47 **ROBINSON JW, MIRKOVITCH V.:** The recovery of function and microcirculation in small intestinal loops following ischaemia. *GUT* 1972; 13:784-789.
- 48 **MANAX WG, BLOCH JH, EYAL Z, et al.:** Experimental preservation of the small bowel. *AM J SURG* 1965; 109:26-30.
- 49 **TOLEDO-PEREYRA LH, NAJARIAN JS.:** Preservation of the small intestine for allotransplantation. *SURG GYNECOL OBSTET* 1973; 137:445-450.
- 50 **TOLEDO-PEREYRA LH, SIMMONS RL, NAJARIAN JS.:** Two-to-three day intestinal preservation utilizing hypothermia pulsatile perfusion. *ANN SURG* 1974; 179:454-459.
- 51 **RAJU S, FUJIWARA H, LEWIN JR, et al.:** Twelve-hour and twenty four-hour preservation of small bowel allografts by simple hypothermia. Survival utilizing Cyclosporine. *TRANSPLANTATION* 1988; 45:290-293.
- 52 **TOLEDO-PEREYRA LH, NAJARIAN JS.:** Small bowel preservation. Comparison of perfusion and nonperfusion systems. *ARCH SURG* 1973; 107:875-877.
- 53 **GUTIERREZ VR, TOLEDO-PEREYRA LH.:** Acute mesenteric small bowel ischemia in the rat. I. Protective effect of Naloxone. *TRANSPLANTATION* 1990;49:830-833.
- 54 **SUN SC, GREENSTEIN SM, SCHECHNER RS, et al.:** Improved small intestinal preservation with additional use of superoxide dismutase to university of Wisconsin solution. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1092-1093.
- 55 **TAKARA T, GUTTMAN FM, ZORYCHTA E, et al.:** Rat small bowel preservation for 24 and 48 hours. *TRANSPLANT PROC* 1993; 26(6):2999-3000.
- 56 **SLOCUM MM, GRANGER DN.:** Early mucosal and microvascular changes in feline intestinal transplants. *GASTROENTEROLOGY* 1993; 105:1761-1768.
- 57 **MATSUSAKA C, MARUBAYASHI S, DOHI K, et al.:** The protective effect of administered CoQ<sub>10</sub> against small intestinal damage caused by ischemia reperfusion. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1090-1091.
- 58 **CRONENWETT JL, AYAD M, KAZMERS A.:** Effect of intravenous glucagon on the survival of rats after acute occlusive mesenteric ischemia. *J SURG RES* 1985; 38:446-452.
- 59 **TOLEDO PEREYRA LH.:** Small bowel preservation: evolution of methods and ideas, and current concepts. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1083-1084.
- 60 **RICOUR C, REVILLON Y, PLETYNEX M, et al.:** Conservation hypothermique et autotransplantation du grele chez le porcelet. *GASTROENTEROL CLIN BIOL* 1981; 5:977-986.

- 61 **SCHRAUT WH, LEE KKW, TSUJINAKA Y.:** Intestinal preservation of small bowel grafts by vascular washout and cold storage. En DELTZ E, THIEDE A, HAMELMANN H: Small Bowel Transplantation. Experimental and clinical fundamentals. Ed. Springer-Verlag. Berlin, 1986; pg:65-73.
- 62 **HAMAMOTO I, MERHAV H, ZHU Y, et al.:** Lipid peroxidation, brush border, and neutrophil enzyme activity after small bowel preservation: a comparison of preservation solutions. TRANSPLANT PROC 1992; 24(3):1095.
- 63 **SCHWEIZER E, GASSEL A, DELTZ E, et al:** Morphologic and histologic alterations after small bowel transplantation. A comparison of different perfusion solutions. TRANSPLANT PROC 1992; 24(3):1087.
- 64 **LEE MD, LEE S, KIM SM, et al.:** The effect of bowel content on ischemia injury of the small intestine. TRANSPLANT PROC 1992; 24(3):1073-1076.
- 65 **SCHOLTEN E, MANEK S, PEARSON J, et al.:** Ischemia and long-term reperfusion injury in a one-stage orthotopic rat small bowel transplantation model: When and where to biopsy?. TRANSPLANT PROC 1992; 24(3):1097.
- 66 **RECKENDORFER H, BURGMANN H, SPERLICK M, et al.:** Small intestine energy metabolism during hypothermic storage using different protective solutions. TRANSPLANT PROC 1992; 24(3):1094.
- 67 **FABIAN MA, CANADA AT, COLEMAN LR, et al.:** Use of tissue blood flow and high energy phosphate content to predict small bowel graft survival. TRANSPLANT PROC 1992; 24(3):1088-1089.
- 68 **TOMITA K, YAGI M, MASUTANI H, et al.:** Changes in mucosal glycoprotein at ischemia and reperfusion of the small bowel. TRANSPLANT PROC 1992; 24(3):1098-1099.
- 69 **LI XC, TUCKER J, ZHONG R, et al.:** The role of gut associated lymphoid tissue in intestinal rejection: Allogeneic response to rat intestinal lymphocytes. TRANSPLANTATION 1993; 56(1):244-247.
- 70 **KIRKMAN RL.:** Small bowel transplantation. TRANSPLANTATION 1984; 37:429-433.
- 71 **SCHRAUT WH, LEE KK, DAWSON PJ, et al.:** Graft-versus-host disease induced by small bowel allografts. Clinical course and pathology. TRANSPLANTATION 1986; 41(3):286-290.
- 72 **MOYNIHAN HL, STANGL MJ, LANGREHR J, et al.:** The development of graft versus host disease in the immunologically compromised recipient of a small bowel allograft. TRANSPLANT PROC 1990; 22:2055-2057.
- 73 **SCHRAUT WH, LEE KKW.:** Clinicopathologic differentiation of rejection and graft-versus-host disease following small bowel transplantation. En DELTZ E, THIEDE A, HAMELMANN H: Small Bowel Transplantation. Experimental and clinical fundamentals. Ed. Springer-Verlag. Berlin, 1986; pg:98-108.
- 74 **TELFORD GL, CORRY RJ.:** Immunological enhancement of rat small intestinal allografts. ARCH SURG 1978; 113:615-617.

- 75 **KIRKMAN RE, LEAR PA, MADARA JL, et al.:** Small intestine transplantation in the rat: immunology and function. *SURGERY* 1984; 96(2):280-287.
- 76 **ROSEMURGY AS, SCHRAUT WH.:** Small bowel allografts: sequence of histologic changes in acute and chronic rejection. *AM J SURG* 1986; 151:470-475.
- 77 **SCHRAUT WH, ROSEMURGY AS, RIDDELL RM.:** Prolongation of intestinal allograft survival without immunosuppressive drug therapy. *J SURG RES* 1983; 34:597-607.
- 78 **PRITCHARD TJ, KIRKMAN RL.:** Small bowel transplantation. *WORLD J SURG* 1985; 9:860-867.
- 79 **PECTEAU AH, TCHERVENKOV JI, GUTTMAN FM, et al.:** Small bowel transplantation: The effect of intraportal donor-specific transfusion 24 hours pretransplant and low-dose cyclosporine. *TRANSPLANTATION* 1994; 58(4):399-402.
- 80 **LUCK R, KLEMPNAUER J, STEINIGER B.:** Immunogenetic investigations of graft-versus-host reactions after small bowel transplantation with mesenteric lymphadenectomy. *TRANSPLANT PROC* 1993; 25(5):2869-2870.
- 81 **LEE KK, SCHRAUT WH.:** In vitro allograft irradiation prevents graft-versus-host disease in small bowel transplantation. *J SURG RES* 1985; 38:364-372.
- 82 **CHOWDHURY NC, JIN MX, OLUWOLE SF.:** Prevention of graft versus host disease in rat small bowel transplantation by recipient pretreatment by UV-B-modulate bone marrow cells. *TRANSPLANTATION* 1993; 55(6):1229-1235.
- 83 **DELTZ E, ULRICHS D, SCHACK T, et al.:** Graft-versus host reaction in small bowel transplantation and possibilities for its circumvention. *AM J SURG* 1986; 151:379-386.
- 84 **REVILLON Y, GALLIX P, ARNAUD-BATTANDIER F, et al.:** Small bowel allotransplantation in pigs using Cyclosporine A: Technique and results. En DELTZ E, THIEDE A, HAMELMANN H: *Small Bowel Transplantation. Experimental and clinical fundamentals.* Ed. Springer-Verlag. Berlin, 1986; pg:192-195.
- 85 **WOOD RFM, INGHAM CLARK CL.:** Small bowel transplantation: future prospects. *IMMUNOLOGY LETTERS* 1991; 29:157-160.
- 86 **DELTZ E, MÜLLER-HERMELINK HK, ULRICHS K, et al.:** Development of graft-versus-host reaction in various target organs after small intestine transplantation. *TRANSPLANT PROC* 1981; 13:1215-1216.
- 87 **POMPOSELLI F, MAKI T, KIYOIZUMI T, et al.:** Induction of graft-versus-host disease by small intestinal allotransplantation in rats. *TRANSPLANTATION* 1985; 40:343-346.
- 88 **FUJIWARA H, RAJU S, GROGAN JB, et al.:** Total orthotopic small bowel allotransplantation in the dog. Features of atypical rejection and graf versus host reaction. *TRANSPLANTATION* 1987; 44:747-753.
- 89 **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.
- 90 **BITTER-SUERMAN H.:** Induction of lethal graft versus host disease in rats by spleen grafting.

- J SURG RES 1974; 17:352-355.
- 91 **SCHRAUT WH.:** Current status of small bowel transplantation. GASTROENTEROLOGY 1988; 94(2):525-538.
- 92 **PRESTON FW, MACALALAD FV, GRABER R, et al.:** Function and survival of jejunal homotransplants in dogs with and without immunosuppressive treatment. TRANSPLANTATION 1965; 3:224-229.
- 93 **TAYLOR RMR, WATSON JW, WALKER FC, et al.:** Prolongation of survival of jejunal homografts in dogs treated with azathioprine (Imuran). BR J SURG 1969; 53:134-138.
- 94 **QUINT J, HARDY MA, STATE D.:** Effects of antilymphocyte serum on absorptive function and survival of dog intestinal allografts SURG FORUM 1968; 19:184-186.
- 95 **HOLMES JT, YEK SDJ, WINAWER SH, et al.:** Absorption studies in canine jejunal allografts. ANN SURG 1971; 174:101-108.
- 96 **RUIZ JO, UCHIDA H, LILLEHEI RC.:** Problems in absorption and immunosuppression after entire intestinal allotransplantation. AM J SURG 1972; 123:297-303.
- 97 **WALL AJ, PETERS TJ.:** Changes in structure and peptidase activity of rat small intestine induced by prednisolone. GUT 1971; 12:445-448.
- 98 **FLYE MW.:** Immunosuppressive therapy. En: FLYE MW: Principles of organ transplantation. Ed. WB Saunders Co. Philadelphia, 1989; pg:155-175.
- 99 **SCHREIER E.:** Inhibition of T-Cell signalling pathways by immunophilin drug complexes: which side effects may be inherent to immunosuppressive properties ?. Congress Report XIV INTERNATIONAL CONGRESS OF TRANSPLANTATION SOCIETY (Ref.87). Paris, 1992.
- 100 **SCHWARTZ RH.:** Anergia de las células T. INVESTIGACION Y CIENCIA 1993; octubre:24-31.
- 101 **HATCHER PA, DEATON DH, BOLLINGER RR.:** Transplantation of the entire small bowel in inbred rats using cyclosporine. TRANSPLANTATION 1987; 43(4):478-484.
- 102 **LEE KKW, SCHRAUT WH.:** Structure and function of orthotopic small bowel allografts in rats treated with cyclosporine. AM J SURG 1986; 151:55-60.
- 103 **PREISSNER WCh, LIEGGENS P, GUNDLACH M, et al.:** Rejection in orthotopic small-bowel transplantation and immunosuppression by cyclosporine A: evidence of development of tolerance mechanisms. En DELTZ E, THIEDE A, HAMELMANN H: Small Bowel Transplantation. Experimental and clinical fundamentals. Ed. Springer-Verlag. Berlin, 1986; pg:121-124.
- 104 **COHEN Z, SILVERMAN RE, LEVY G et al.:** Clinical small intestinal transplantation using Cyclosporine and Methylprednisolone. TRANSPLANT PROC 1987; 19:2588-2590.
- 105 **DILIZ-PEREZ H, McCLURE J, BEDETTI C, et al.:** Successful small bowel allotransplantation in dogs with cyclosporine and prednisone. TRANSPLANTATION 1984; 37:126-129.
- 106 **RAJU S, DIDLAKE RH, CAYIRLY M, et al.:** Experimental small bowel transplantation utilizing Cyclosporine. TRANSPLANTATION 1984; 38:561-566.

- 107 **ALSINA AE, NAGASHIMA I, SCHWEIZER RT.:** Orthotopic porcine small bowel transplantation using low-dose Cyclosporine in triple immunosuppressive therapy. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1169-1171.
- 108 **LEIMENSTOLL G, PREISSNER WCh, LOSKE G, et al.:** Different modes of Cyclosporine A administration in experimental small bowel transplantation. En DELTZ E, THIEDE A, HAMELMANN H: *Small Bowel Transplantation. Experimental and clinical fundamentals*. Ed. Springer-Verlag. Berlin, 1986; pg:166-169.
- 109 **CRADDOCK GN, NORDGREN SR, REZNICK RK, et al.:** Small bowel transplantation in the dog using Cyclosporine. *TRANSPLANTATION* 1983; 35:284-288.
- 110 **FUJIWARA H, GROGAN JB, RAJU S.:** Total orthotopic small bowel transplantation with cyclosporine. *TRANSPLANTATION* 1987; 44(4):469-474.
- 111 **FUJIWARA H, RAJU S, GROGAN J.:** Cyclosporine absorption in total orthotopic small bowel transplantation in dogs. *TRANSPLANT PROC* 1987; 19:1125-1127.
- 112 **CAKALOGLU Y, MARINOS G, MARSDEN J, et al.:** Localization of Cyclosporin A absorption in rat small bowel and the effect of bile. *CLIN SCI* 1993; 84:675-679.
- 113 **GRANT D, DUFF J, ZHONG R, et al.:** Successful intestinal transplantation in pigs treated with cyclosporine. *TRANSPLANTATION* 1988; 45:279-284.
- 114 **MARTINELLI GP, KNIGHT RK, KAPLAN S, et al.:** Small bowel transplantation in the rat: effect of pretransplant blood transfusions and cyclosporine on host survival. *TRANSPLANTATION* 1988; 45(6):1021-1026.
- 115 **PECTEAU A, TCHERVENKOV J, GUTTMAN FM, et al.:** Small bowel transplantation in the rat: The effect of donor-specific transfusion 24 hours pretransplant and Cyclosporine. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1166.
- 116 **XIAO F, FOSTER PF, SANKARY HN, et al.:** The effect of Ultraviolet B-irradiated leukocyte transfusion in intestinal transplantation. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1167-1168.
- 117 **AEDER MI, PAYNE WD, JENG LB, et al.:** Use of cyclosporine for small intestinal allotransplantation in dogs. *SURG FORUM* 1984; 35:387.
- 118 **RICOUR C, REVILLON Y, ARNAUD-BATTANDIER F, et al.:** Successful small bowel allografts in piglets using cyclosporine. *TRANSPLANT PROC* 1983; 15:3019.
- 119 **KIM PCW, COHEN Z, WONG PY, et al.:** The effects of cyclosporine and cyclosporine metabolites in experimental small intestinal transplantation. *TRANSPLANTATION* 1990; 49:1043-1050.
- 120 **IGA C, OKAJIMA K, TAKEDA Y, et al.:** Prolonged survival of small intestinal allograft in the rat with Cyclosporine A, FK506, and 15 Deoxyspergualin. *TRANSPLANT PROC* 1990; 22(4):1658-1659.
- 121 **PETERS DH, FITTON A, PLOSKER GL, et al.:** Tacrolimus: a review of its pharmacology, and therapeutic potential in hepatic and renal transplantation. *DRUGS* 1993; 46(4):746-794.

- 122 **OCHIAI T, NAGATA M, NAKAJIMA K, et al.:** Prolongation of canine renal allograft survival by treatment with FK-506. *TRANSPLANT PROC* 1987; 19(Suppl 6):53-56.
- 123 **OCHIAI T, NAGATA M, NAKAJIMA K, et al.:** Effect of a new immunosuppressive agent, FK 506, on heterotopic cardiac allotransplantation in the rat. *TRANSPLANTA PROC* 1987; 19:1284-1286.
- 124 **THOMSON AW.:** FK506 enters the clinic. *IMMUNOL TODAY* 1990; 11:35-36.
- 125 **STARZL T, TODO S, FUNG J, et al.:** FK 506 for liver, kidney, and pancreas transplantation. *LANCET* 1989; 28:1000-1004.
- 126 **HOFFMAN AL, MAKOWKA L, CAY X, et al.:** The effect of FK506 on small intestine allotransplantation in the rat. *TRANSPLANT PROC* 1990; 22(Suppl 1):76-77.
- 127 **HOFFMAN AL, MAKOWKA L, BANNER B, et al.:** The use of FK506 for small intestine allotransplantation. *TRANSPLANTATION* 1990; 49: 483-490.
- 128 **LEE KK, STANGL MJ, TODO S, et al.:** Successful orthotopic small bowel transplantation with short-term FK506 immunosuppressive therapy. *TRANSPLANT PROC* 1990; 22(Suppl.1):78-79.
- 129 **HATAZAWA C, YAMAGUCHI M, KATO T, et al.:** Effect of FK 506 on bowel transplantation in rats. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1177.
- 130 **DATE K, OKAJIMA K, TAKEDA Y, et al.:** Effect of FK 506 on graft survival in rat small intestinal allografts. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1173.
- 131 **SANTIAGO SF, FUKUZAWA M, AZUMA T, et al.:** Effect of short-term immunosuppressive therapy with FK 506 or CyA on the donor in small intestine allotransplantation in rats. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1189.
- 132 **UTSUNOMIYA H, TANAKA K, UEMOTO S, et al.:** Effect of FK 506 on orthotopic small bowel transplantation in rats. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1191.
- 133 **FABIAN MA, DENNING SM, BOLLINGER RR.:** Rapamycin suppression of host-versus-graft and graft-versus-host disease in MHC-Mismatched rats. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1174.
- 134 **CHEN H, WU J, XU D, et al.:** The effect of Rapamycin on orthotopic small bowel transplantation in the rat. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1157-1158.
- 135 **HE G, ZHONG R, ZHANG Z, et al.:** Donor pretreatment with Rapamycin delays rejection following intestinal allotransplantation. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1178.
- 136 **SOLLINGER HW, EUGUI EM, ALLISON AC.:** RS 61443: Mechanism of action, experimental and early clinical results. *CLIN TRANSPLANT* 1991; 5:523.
- 137 **DEIERHOI M, SOLLINGER H, DIETHELM A, et al.:** One year follow-up results of a phase I trial of RS 61443 in cadaveric renal transplantation. Congress Report XIV INTERNATIONAL CONGRESS OF TRANSPLANTATION SOCIETY (Ref.138). Paris, 1992.
- 138 **PLATZ KP, SOLLINGER HW, HULLETT DA, et al.:** RS-61443: a new potent immunosuppressive agent. *TRANSPLANTATION* 1991;51:27-31.

- 139 **D'ALESSANDRO AM, RANKIN M McVEY J, et al.:** Prolongation of canine intestinal allograft survival with RS-61443, Cyclosporine, and Prednisone. *TRANSPLANTATION* 1993; 55(4):695-701.
- 140 **MURPHY MP, MORRIS RE.:** Brequinar is a new and highly potent antimetabolite immunosuppressant that reverses advanced graft rejection and effectively suppresses accelerated rejection. Congress Report XIV INTERNATIONAL CONGRESS OF TRANSPLANTATION SOCIETY (Ref.123). Paris, 1992.
- 141 **CRAMER DV, CHAPMAN FA, JAFFEE BD, et al.:** The effect of a new immunosuppressive drug, *brequinar sodium*, on heart, liver, and kidney allograft rejection in the rat. *TRANSPLANTATION* 1992;53:303-307.
- 142 **COLLINS BH, AREFORD ML, FABIAN MA, et al.:** Brequinar sodium potentiates the effects of cyclosporine in experimental small bowel transplantation. *TRANSPLANT PROC* 1993; 25(3, Sspl 2): 37-39.
- 143 **STANGL MJ, LEE KKW, FUNKE J, et al.:** Labelling of class II positive dendritic cells by ex vivo perfusion of murine small bowel grafts prior to transplantation. *TRANSPLANT PROC* 1990; 22:2062-2063.
- 144 **LEE KKW, SCHRAUT WH, SUTTON HG.:** Prevention of graft-versus-host disease using in vitro irradiation of small bowel grafts. En DELTZ E, THIEDE A, HAMELMANN H: *Small Bowel Transplantation. Experimental and clinical fundamentals*. Ed. Springer-Verlag. Berlin, 1986; pg:129-134.
- 145 **FOSTER PF, SANKARY HN, KOCISS K, et al.:** The interaction of Gamma irradiation of the allograft and recipient administration of Cyclosporine in rat small bowel transplantation. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1175-1176.
- 146 **LEE TK, LANGREHR JM, MOYNIHAN HL, et al.:** Failure of donor irradiation to prolong allograft survival in small bowel transplantation in rats. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1183-1184.
- 147 **SHAFFER D, MAKI T, DeMICHELE SJ, et al.:** Studies in small bowel transplantation: prevention of graft versus host disease with preservation of allograft function by donor pretreatment with antilymphocyte serum. *TRANSPLANTATION* 1988; 45(2):262-269.
- 148 **SAAT RE, HEINEMAN E, DE BRUIN RWF, et al.:** Total orthotopic allogeneic small bowel transplantation in rats. Attempts to ameliorate the Graft-versus-host-disease by irradiation and transfusions of the donor. *TRANSPLANTATION* 1989; 47:451-453.
- 149 **XIAO F, FOSTER PF, SANKARY HN, et al.:** Amelioration of Graft-Versus-Host Disease following bowel transplantation with recipient specific leukocyte transfusion. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1192-1193.
- 150 **SAAT RE, DE BRUIN RWF, HEINEMAN E, et al.:** The limited efficacy of cyclosporine in preventing rejection and graft-versus-host disease in orthotopic small bowel transplantation in rats. *TRANSPLANTATION* 1990; 50:374-377.
- 151 **SHINOZAWA T, BESCHORNER WE, HESS AD.:** The thymus and prolonged administration of cyclosporine: irreversible immunopathologic changes associated with autologous pseudo graft-versus-host disease. *TRANSPLANTATION* 1990; 50(1):106-111.

- 152 **SHAFFER D, BLAKELY ML, GOTTSCHALK R, et al.:** Small bowel transplantation in rats using RS-61443: Effect on GVHD and rejection. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1159-1160.
- 153 **SONNINO RE.:** RS-61443 prevents Graft-Versus-Host Disease but not rejection in allogeneic rat small bowel transplants. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1190.
- 154 **TANAKA S, OKADA H, UDA K, et al.:** Mechanism of Graft-Versus-Host Disease and inhibition with Deoxyspergualin on small bowel transplantation in rats. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1161-1163.
- 155 **LOSSING A, NORDGREN S, COHEN Z, et al.:** Histologic monitoring of rejection in small intestinal transplantation. *TRANSPLANT PROC* 1982; 14:643-645.
- 156 **SCHMID T, OBERHUBER G, KÖRÖSI G, et al.:** MHC Class II antigens are expressed by enterocytes lining the crypts of Lieberkühn during initial phases of rejection. *TRANSPLANT PROC* 1990; 22(4):2064-2065.
- 157 **MILLARD PR, DENNISON A, HUGHES DA, et al.:** Morphology of intestinal allograft rejection and the inadequacy of mucosal biopsy in its recognition. *BR J EXP PATH* 1986; 67:687-698.
- 158 **TANNENBAUM G, BENVENISTY AI, CHABOT J, et al.:** Stoma or no stoma in intestinal transplantation. En DELTZ E, THIEDE A, HAMELMANN H: *Small Bowel Transplantation. Experimental and clinical fundamentals.* Ed. Springer-Verlag. Berlin, 1986; pg:182-191.
- 159 **BILLIAR TR, GARBEROGLIO C, SCHRAUT WH.:** Maltose absorption as an indicator of small-intestinal allograft rejection. *J SURG RES* 1984; 37:75-82.
- 160 **SCHROEDER P, SANDFORTH F, DELTZ E.:** Glucose absorption after heterotopic small bowel transplantation. En DELTZ E, THIEDE A, HAMELMANN H: *Small Bowel Transplantation. Experimental and clinical fundamentals.* Ed. Springer-Verlag. Berlin, 1986; pg:74-78.
- 161 **LEAR PA, WATSON AJ, D'ARDENNE J, et al.:** Analysis of nutrient transport in successful small bowel transplants. *TRANSPLANT PROC* 1987; 19:1123-1124.
- 162 **COLLIN J, DENNISON AR, WATKINS RM, et al.:** Orthotopic segmental small intestinal transplantation in the dog. En DELTZ E, THIEDE A, HAMELMANN H: *Small Bowel Transplantation. Experimental and clinical fundamentals.* Ed. Springer-Verlag. Berlin, 1986; pg:44-48.
- 163 **WATSON AJM, LEAR PA, MONTGOMERY A, et al.:** Water, electrolyte, glucose and glycine absorption in rat small intestinal transplants. *GASTROENTEROLOGY* 1988; 94:863-869.
- 164 **SCHROEDER P, DELTZ E, SEIFERT J, et al.:** Absorptive capacity of the transplanted small bowel. *GUT* 1987; 28:275-279.
- 165 **NORDGREN S, COHEN Z, MACKENZIE R, et al.:** Functional monitors of rejection in small intestinal transplants. *AM J SURG* 1984; 147:152-158.
- 166 **MEIJSEN MAC, HEINEMAN E, DE BRUIN RWF, et al.:** Diminished functional capacity and compromised mucosal integrity in acute rejecting DLA-Matched and mismatched canine small bowel allografts. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1116-1117.

- 167 **TEITELBAUM DH, SONNINO RE, DUNAWAY DJ, et al.:** Rat jejunal absorptive function after intestinal transplantation. *Effects of extrinsic denervation.* DIG DIS SCI 1993; 38(6):1099-1104.
- 168 **TAKEDA Y, OKAJIMA K, ISOZAKI H, et al.:** Digestive and absorptive function of orthotopic small intestinal transplantation in the rat. TRANSPLANT PROC 1992; 24(3):1122-1123.
- 169 **SCHRAUT WH, LEE KKW, SITRIN M.:** Recipient growth and nutritional status following transplantation of segmental small bowel allografts. J SURG RES 1987; 43:1-9.
- 170 **SCHMID TH, KOEROEZSI G, OBERHUBER G, et al.:** Lymphatic regeneration after small bowel transplantation. TRANSPLANT PROC 1990; 22:2060-2061.
- 171 **JOHNSON CP, COWLES VE, BONHAM L, et al.:** Changes in motility, transit time, and absorption following surgical transection of the jejunum. TRANSPLANT PROC 1992; 24(3):1110-1112.
- 172 **DELTZ E, GEBHARDT JH, PREISSNER Ch, et al.:** Distribution of gastrointestinal hormones in the adaptive response after small bowel transplantation. GUT 1987; 28:217-220.
- 173 **GEBHARDT JH, PREISSNER WCh, DELTZ E, et al.:** Patterns of gastrointestinal hormone distribution after small bowel transplantation. En DELTZ E, THIEDE A, HAMELMANN H: Small Bowel Transplantation. Experimental and clinical fundamentals. Ed. Springer-Verlag. Berlin, 1986; pg:84-86.
- 174 **PRICE BA, CUMBERLAND NS, INGHAM CLARK CL, et al.:** Changes in small intestinal microflora following small bowel transplantation in the rat and bacterial translocation in rejection and Graft-Versus-Host Disease. TRANSPLANT PROC 1992; 24(3):1194.
- 175 **BROWNE BJ, JOHNSON CP, EDMISTON CE, et al.:** Alterations in intestinal flora following small bowel transplantation. TRANSPLANT PROC 1992; 24(3):1102.
- 176 **FABIAN MA, BOLLINGER RR.:** Rapid translocation of bacteria in small bowel transplantation. TRANSPLANT PROC 1992; 24(3):1103.
- 177 **XIA W, KIRKMAN RL.:** Immune function in transplanted small intestine. Total secretory IgA production and response against cholera toxin. TRANSPLANTATION 1990; 49:277-280.
- 178 **XIA W, KIRKMAN RL.:** Priming the recipient abrogates the inhibitory effect of Cyclosporine on specific sIgA production against cholera toxin in small bowel transplantation. TRANSPLANT PROC 1992; 24(3):1139-1140.
- 179 **ROTMAN N, MICHOT F, HAY JM, et al.:** Serum lactic dehydrogenase in small bowel transplantation in the pig. En DELTZ E, THIEDE A, HAMELMANN H: Small Bowel Transplantation. Experimental and clinical fundamentals. Ed. Springer-Verlag. Berlin, 1986; pg:37-48.
- 180 **POLSON H, MOWAT C, HIMAL HS.:** Experimental and clinical studies of mesenteric infarction. SURG GYNECOL OBSTET 1981; 153:360-362.
- 181 **MAEDA K, SCHWARTZ MZ, BAMBERGER MH, et al.:** A possible serum marker for rejection after small intestine transplantation. AM J SURG 1987; 153:68-74.

- 182 **LANGREHR JM, MÜLLER AR, LEE TK, et al.:** Serum NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub> from oxidative L-Arginine metabolism: a possible serum marker for small bowel allograft rejection. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1148.
- 183 **SONNINO RE, STELLATO TA, PRITCHARD TJ.:** Colonoscopy to monitor small bowel transplant in the rat. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1078.
- 184 **CHEUNG AHS, FERGUSON DC, JIRANEK GC, et al.:** Experimental use of high-frequency ultrasound to image bowel wall after porcine intestinal transplantation. *J PEDIATRIC SURG* 1993; 28(4):591-596.
- 185 **DUDRICK S, LATIFIR, FOSNOCHT DE.:** Management of the short bowel syndrome. *SURG CLIN NORTH AM* 1991; 71(3):625-643.240
- 186 **ARCELUS I.:** Síndrome de intestino corto. En: DURAN-SACRISTAN H, ARCELUS-IMAZ I, GARCIA-SANCHEZ L, et al.: Cirugia. Tratado de patologia y clínica quirúrgicas. Vol.II, 2ªed. Madrid, 1993; 2500-2508.
- 187 **HAYMOND HE.:** Massive resection of the small intestine. An analysis of 257 collected cases. *SURG GYNECOL OBSTET* 1935; 61:693-705.
- 188 **VANDERHOOF JA, LANGNAS AN, PINCH LW, et al.:** Short bowel syndrome. *J PEDIATRIC GASTROENTEROLOGY AND NUTRITION* 1992; 14:359-370.
- 189 **ALPERS DH.:** Surgical therapy for obesity. *N ENG J MED* 1983; 308:1026-1027.
- 190 **SIMONS BE, JORDAN GL.:** Massive bowel resection. *AM J SURG* 1969; 118:953-959.
- 191 **NIGHTINGALE JMD, LENNARD-JONES JE.:** The short bowel syndrome: What's new and old?. *DIG DIS* 1993; 11:12-31.
- 192 **WESER E.:** Nutritional aspects of malabsorption: short gut adaptation. *CLIN GASTROENTEROL* 1983; 12:443-461.
- 193 **ALLARD J, JEEJEEBHOY K.:** Nutritional support and therapy in the short bowel syndrome. *GASTROENTEROL CLIN NORTH AM* 1989; 18:589-601.
- 194 **DUDRICK SJ, JACKSON D.:** The short bowel syndrome and total parenteral nutrition. *HEART LUNG* 1983; 12:195-201.
- 195 **GOUTTEBEL M, SAINT-AUBERT B, ASTRE C, et al.:** Total parenteral nutrition needs in different types of short bowel syndrome. *DIG DIS SCI* 1986; 31:718-723.
- 196 **TESTUD L, LATARJET A.:** Intestino delgado. En *Anatomia Humana*. Tomo IV. pg: 304-312. Ed.Salvat. Barcelona 1980.
- 197 **HIRSCH J, AHRENS EH, BLANKENHORN DH.:** Measurement of the human intestinal length in vivo and some causes of variation. *GASTROENTEROLOGY* 1956; 31:274-284.
- 198 **NYGAARD K.:** Resection of the small intestine in rats. III. Morphological changes in the intestinal tract. *ACTA CHIR SCAND* 1967; 133:233-248.

- 199 **DOWLING RH, BOOTH CC.:** Structural and functional changes following small intestinal resection in the rat. *CLIN SCI* 1967; 32:139-149.
- 200 **WESER E, HERNANDEZ MH.:** Studies of small bowel adaptation after intestinal rejection in the rat. *GASTROENTEROLOGY* 1971; 60:69-75.
- 201 **NIGHTINGALE JMD, LENNARD-JONES JE, WALKER ER, et al.:** Jejunal efflux in short bowel syndrome. *LANCET* 1990; 336:765-768.
- 202 **COSNES J, GENDRE JP, LE QUINTREC Y.:** Role of the ileocecal valve and site of intestinal rejection in malabsorption after extensive small bowel resection. *DIGESTION* 1978; 18:329-336.
- 203 **RICOTTA J, ZUIDEMA FD, GADACZ RT, et al.:** Construction of an ileocecal valve and its role in massive resection of the small intestine. *SURG GYNECOL OBSTET* 1981; 152:310-314.
- 204 **BURY KD.:** Carbohydrate digestion and absorption after massive resection of the small intestine. *SURG GYNECOL OBSTET* 1972; 135:177-187.
- 205 **RIUS X, GUIX M, GARRIGA J, et al.:** Parietal cell volume, hypergastinemia, and gastric acid hypersecretion after small bowel resection. *AM J SURG* 1982; 114:269-272.
- 206 **STRAUS E, GERSON CHD, YALOW RS.:** Hypersecretion of gastrin associated with the short bowel syndrome. *GASTROENTEROLOGY* 1974; 66:175-180.
- 207 **WILLIAMS NS, EVANS P, KING RF.:** Gastric acid secretion and gastrin production in the short bowel syndrome. *GUT* 1985; 26:914-919.
- 208 **SCHWARTZ SI, SHIRES TG, SPENCER FC.:** *Síndrome del intestino corto. En Principios de cirugía.* Ed. McGraw-Hill, Interamericana. 5ªed. Mexico, 1991;pg:1084-1086.
- 209 **PERA C.:** *Cirugía del duodeno, yeyunoileon y apéndice vermiforme. En Cirugía. Fundamentos, Indicaciones y Opciones Técnicas. Tomo I.* pg:755-813. Ed.Salvat. Barcelona 1983.
- 210 **PHILIPS SF, GILLER J.:** The contribution of the colon to electrolyte and water conservation in man. *J LAB CLIN MED* 1973; 81:733-746.
- 211 **BOND JH, LEVITT MD.:** Fate of soluble carbohydrate in the colon of rats and humans. *J CLIN INVEST* 1976; 57:1158-1164.
- 212 **BOND JH, CURRIER BE, BUCHWALS H, et al.:** Colonic conservation of malabsorbed carbohydrates. *GASTROENTEROLOGY* 1980; 78:444-447.
- 213 **HAVERSTAD T.:** Studies of short-chain fatty acid absorption in man. *SCAND J GASTROENTEROL* 1980; 21:257-260.
- 214 **FELDMAN EJ, DOWLING RH, McNAUGHTON J, et al.:** Effects of oral versus intravenous nutrition on intestinal adaptation after small bowel resection in the dog. *GASTROENTEROLOGY* 1976; 70:712-719.
- 215 **WILLIAMSON RCN.:** Intestinal adaptation: mechanisms of control. *N ENGL J MED* 1978; 298:1444-1450.

- 216 **WILLIAMSON RCN.:** Intestinal adaptation: structural, functional and cyto kinetic changes. N ENGL J MED 1978; 298:1393-1402.
- 217 **JOHNSON LR, LICHTENBERGER LM, COPELAND EM, et al.:** Action of gastrin on gastrointestinal structure and function. GASTROENTEROLOGY 1975; 68:1184-1192.
- 218 **MORIN CL, LING V.:** Effects of pentagastrin on the rat small intestine after resection. GASTROENTEROLOGY 1978; 75:224-229.
- 219 **HOLST JJ, SORENSEN TIA, ANDERSEN AN, et al.:** Plasma enteroglucagon after jejunoileal by pass with 3:1 or 1:3 jejunoileal ratio. SCAND J GASTROENTEROL 1979; 14:205-207.
- 220 **WISE L, GREENBERG RE.:** Short bowel syndrome. En: NORTON LW, STEELE G Jr., EISEMAN B.: Surgical decision making. Ed. WB Saunders Co. Philadelphia, 1993. pg:146-147.
- 221 **BURRINGTON JD.:** Surgery after massive bowel resection. AM J SURG 1971; 121:213-214.
- 222 **MAY AG, PHILLIPS CE, SHERMAN CD.:** Massive intestinal resection: are adjunctive surgical procedures necessary ?. ARCH SURG 1966; 92:344-348.
- 223 **THOMPSON JS, RIKKERS LF.:** Surgical alternatives for the short bowel syndrome. AM J GASTROENTEROL 1987; 82:97-106.
- 224 **DEVINE RM, KELLY KA.:** Surgical therapy of short bowel syndrome. GASTROENTEROL CLIN NORTH AM 1989; 18:603-617.
- 225 **FINK WJ, OLSON JD.:** The massive bowel resection syndrome: treatment with reversed intestinal segments. ARCH SURG 1967; 94:700-706.
- 226 **HAKAMI M, MOSLEHY A, MOSAVY SH.:** Reversed jejunal segment used to treat the short bowel syndrome. AM SURG 1975; 41:432-435.
- 227 **PERTSEMLIDIS D, KARK AE.:** Antiperistaltic segments for the treatment of short bowel syndrome. AM J GASTROENTEROL 1974; 63:526-530.
- 228 **WARDEN MJ, WESLEY JR.:** Small bowel reversal procedure for treatment of the "short gut" baby. J PEDIATRIC SURG 1978; 13:321-323.
- 229 **GLICK PL, DE LORIMER AA, ADZICK NS, et al.:** Colon interposition: an adjuvant operation for short-gut syndrome. J PEDIATRIC SURG 1984; 19:719-725.
- 230 **WADDELL WR, KERN F Jr, HALGRIMSON CG, et al.:** A simple jejunocolic valve for relief of rapid transit and the short bowel syndrome. ARCH SURG 1970; 100:438-444.
- 231 **LOPEZ PEREZ GA, MARTINEZ AJ, MACHUCA J, et al.:** Experimental antireflux intestinal valve. AM J SURG 1981; 141:597-600.
- 232 **GROSFELD JL, RESCORLA FJ.:** Síndrome del intestino corto en los lactantes. En NELSON RL, NYHUS LM: Cirugía del intestino delgado. Ed. Salvat. Barcelona, 1990; pg:113-121.
- 233 **GLADEN HE, KELLY KA.:** Electrical pacing for short bowel syndrome. SURG GINECOL OBSTET 1981; 153:697-700.

- 234 **BIANCHI A.:** A technique for increasing small intestinal length. *J PEDIATRIC SURG* 1980; 15:145-151.
- 235 **THOMPSON JS, VANDERHOOF JA, ANTONSON DL, et al.:** Comparison of techniques for growing small bowel neomucosa. *J SURG RES* 1984; 36:401-406.
- 236 **HUSKISSON LJ, BRERETON RJ, KIELY EM, et al.:** Problems with intestinal lengthening. *J PEDIATR SURG* 1993; 28(5):720-722.
- 237 **BRAGG LE, THOMPSON JS.:** The influence of serosal patch size on the growth of small intestinal new mucosa. *J SURG RES* 1986; 40:426-431.
- 238 **LILLEMØE KD, BERRY WR, HARMON JW, et al.:** Use of vascularized abdominal wall pedicle flaps to grow small bowel neomucosa. *SURGERY* 1982; 91:293-300.
- 239 **THOMPSON JS, VANDERHOOF JA, DAVIS JJ, et al.:** Effect of intestinal location on growth and function of neomucosa. *J SURG RES* 1985; 39:68-75.
- 240 **CAMPBELL FC, HOPWOOD DA.:** Ileal mucosal expansion and colonic autotransplantation: sustained mucosal expansion. *TRANSPLANT PROC* 1990; 22(6):2430.
- 241 **HIYAMA DT.:** The current role of small bowel transplantation in intestinal failure. *NCP* 1993; 8:5-11.
- 242 **HOWARD L, HEAPHEY L, FLEMING CR, et al.:** Four years of North American Registry home parenteral nutrition outcome data and their implication for patient management. *JPEN* 1991; 25:384-393.
- 243 **GROSFELD JL, RESCORLA FJ, WEST KW.:** Short bowel syndrome in infancy and childhood: Analysis of survival in 60 patients. *AM J SURG* 1986; 151:41-46.
- 244 **WEBER TR, TRACY T, CONNORS RH.:** Short bowel syndrome in children: quality of life in an era of improved survival. *ARCH SURG* 1991; 126:841-846.
- 245 **DE POTTER S, GOULET O, LAMOR M, et al.:** 263 Patient-years of home parenteral nutrition in children. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1056-1057.
- 246 **WOLMAN SL, JEEJEEBHOY KN, STEWART S, et al.:** Experience in home parenteral nutrition and indications for small bowel transplantation. En DELTZ E, THIEDE A, HAMELMANN H: *Small Bowel Transplantation. Experimental and clinical fundamentals.* Ed. Springer-Verlag. Berlin, 1986; pg:214-221.
- 247 **LOCHS H, MERYN S, FERENCI P, et al.:** Has total bowel rest a beneficial effect in Crohn's disease. *CLIN NUTR* 1983; 2:61-64.
- 248 **OKUMURA M, MESTER M.:** The coming of age of small bowel transplantation: a historical perspective. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1241-1242.
- 249 **STARZL TE, TODO S, TZAKIS A, et al.:** Abdominal organ cluster transplantation for treatment of upper abdominal malignances. *ANN SURG* 1989; 210:374-385.

- 250 **SCHRAUT WH, LEE KKW.:** Procurement of intestinal allografts from living related and from cadaver donors. En DELTZ E, THIEDE A, HAMELMANN H: Small Bowel Transplantation. Experimental and clinical fundamentals. Ed. Springer-Verlag. Berlin, 1986; pg:203-210.
- 251 **SCHROEDER P, GOULET O, LEAR PA.:** Small bowel transplantation: european experience. LANCET 1990; 336:110-111.
- 252 **STARZL TE, HAKALA TR, SHAR BWJr, et al.:** A flexible procedure for multiple cadaveric organ procurement. SURG GYNECOL OBSTET 1984; 158:223-230.
- 253 **STARZL TE, TODO S, TZAKIS A, et al.:** Multivisceral and intestinal transplantation. TRANSPLANT PROC 1992; 24(3):1217-1223.
- 254 **MARGREITER R, KÖNIGSRAINER A, SCHMID T, et al.:** Successful multivisceral transplantation. TRANSPLANT PROC 1992; 24(3):1226-1227.
- 255 **D'ALESSANDRO AM, KALAYOGLU M, SOLLINGER HW, et al.:** Liver-intestinal transplantation: Report of a case. TRANSPLANT PROC 1992; 24(3):1228-1229.
- 256 **TODO S, TZAKIS A, STARZL TE.:** Intestinal transplantation in composite visceral grafts or alone. ANN SURG 1992; 216:223-234.
- 257 **McALISTER V, WALL W, GHENT C, et al.:** Successful small intestine transplantation. TRANSPLANT PROC 1992; 24(3):1236-1237.
- 258 **GOULET O, REVILLON Y, CANIONI D, et al.:** Two and one-half-year follow-up after isolated cadaveric small bowel transplantation in an infant. TRANSPLANT PROC 1992; 24(3):1224-1225.
- 259 **LILLEHEI RC, IDEKUZI Y, FEEMSTER JA, et al.:** Transplantation of stomach, intestine and pancreas: Experimental and clinical observations. SURGERY 1967; 62(4):721-741.
- 260 **OLIVIER G, RETTORI F, OLIVIER C.:** Homotransplantation orthotopique de l'intestin grêle et dels côlons droit et transverse chez l'homme. J CHIR 1969;92(4):323-330.
- 261 **ALICAN F, HARDY JD, CAYIRLI M, et al.:** Intestinal transplantation: laboratory experience and report of a clinical case. AM J SURG 1971; 121:150-159.
- 262 **FORTNER JG, SICHUK G, LITWIN SD, et al.:** Immunological response to an intestinal allograft with HLA-A identical donor recipient. TRANSPLANTATION 1972; 14:531-535.
- 263 **RUIZ JO, LILLEHEI RC.:** Intestinal transplantation. SURG CLIN NORTH AM 1972; 52:1075-1091.
- 264 **COHEN Z, SILVERMAN RE, WASSEF R, et al.:** Small intestinal transplantation using Cyclosporine. Report of a case. TRANSPLANTATION 1986; 42(6):613-620.
- 265 **JAIN A, VENKATARAMANAN R, TODO S, et al.:** Intravenous, oral pharmacokinetics, and oral dosing of FK 506 in small bowel transplant patients. TRANSPLANT PROC 1992; 24(3):1181-1182.
- 266 **YAGIHASHI A, TAKENAKA T, NOGUCHI K, et al.:** Changes in cell surface markers in human small bowel transplantation with FK 506. TRANSPLANT PROC 1992; 24(3):1203.

- 267 **ABU-ELMAGD K, FUNG JJ, REYES J, et al.:** Management of intestinal transplantation in humans. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1243-1244.
- 268 **TZAKIS AG, TODO S, REYES J, et al.:** Clinical intestinal transplantation: Focus on complications. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1238-1240.
- 269 **NAKAMURA K, TODO S, ABU-ELMAGD K, et al.:** Histologic monitoring of human small bowel allografts with clinical correlation. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1199-1200.
- 270 **FROMONT G, PEUCHMAUR M, DEVERGNE O, et al.:** *In situ* expression of cytokines and serine esterase B in small-bowel allograft rejection. *HISTOPATHOLOGY* 1993; 22:503-505.
- 271 **BACH DB, HURLBUT DJ, ROMANO WM, et al.:** Human orthotopic small intestine transplantation: radiologic assessment. *RADIOLOGY* 1991; 180:37-41.
- 272 **BACH DB, VELLETT AD, LEVIN MF, et al.:** Radiology of clinical small bowel transplantation. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1245.
- 273 **COHEN WI, ZAMBERLAN KE, UNDERWOOD J, et al.:** Developmental issues in childhood small bowel transplantation: Eating and elimination. *TRANSPLANT PROC* 1992; 24(3):1246.
- 274 **PANIS Y, VALLEUR P.:** La transplantation d'intestin grêle: résultats expérimentaux et cliniques. *ANN CHIR* 1993; 47(7):645-658.
- 275 **KOLTUN WA, BLOOMER MM, VARY TC.:** Glutamine does not increase ammonia in systemically drained small bowel transplants. *J SURG RES* 1994; 56:102-107.
- 276 **ZHANG W, FRANKEL WL, SINGH A, et al.:** Improvement of structure and function in orthotopic small bowel transplantation in the rat by glutamine. *TRANSPLANTATION* 1993; 56(3):512-517.
- 277 **MARKS W, GOLLIN G.:** Biochemical detection of small intestinal allograft rejection by elevated circulating levels of serum intestinal fatty acid binding protein. *SURGERY* 1993; 114(2):206-210.
- 278 **MÜELLER AR, LANGREHR JM, NALESNIK M, et al.:** Mucosal Glutaminase activity and histology as parameters of small bowel preservation injury. *J SURG RES* 1994; 56:207-215.
- 279 **OBERHUBER G, SCHMID TH, THALER W, et al.:** Increase in intraepithelial lymphocytes as an early marker of rejection in a fully allogeneic rat small bowel transplantation model. *EUR SURG RES* 1993; 25:310-315.
- 280 **DEARDON DJ, PARROTT NR, HUTCHINSON IV, et al.:** Small bowel tonometry: A possible technique for detecting early small bowel allograft dysfunction. *TRANSPLANT PROC* 1993; 25(6):3293-3294.
- 281 **ROITT I, BROSTOFF J, MALE D.:** Transplante y rechazo. En ROITT I, BROSTOFF J, MALE D.: *Inmunología*. Ed. Gower Medical Publishing Ltd. Barcelona, 1986. Cap.24; pg:24.1-24.8
- 282 **VAQUERO C, GONZALEZ-PEREA J, RODRIGUEZ TOVES LA, et al.:** Manual de microcirugía experimental en la rata. Ed. Universidad de Valladolid, 1988; pg:21-50.

- 283 **MORENO L, GARCIA DE OSMA JL, COMPAIRE FERNANDEZ C.:** Normas para la denominación de cepas o estirpes consanguineas. En: Animales de Laboratorio. Cria, manejo y control sanitario. Ed.Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Madrid, 1983; pg:195-203.
- 284 **VAN ZUTPHEN LFM.:** Genetics of laboratory animals. En: Laboratory animal models for domestic animal production. Ed. Elsevier Science Publishers. Copenhagen, 1986; pg:47-84.
- 285 **LAMBERT R.:** Surgery of the intestine: anatomy of the small intestine. En LAMBER R: Surgery of the digestive system in the rat. Ed. Charles C.Thomas. Springfield, 1965; pg:389-391.
- 286 **BLOOM FAWCETT:** Intestino. En Tratado de Histologia. Cap.26 pg:645-682.
- 287 **JUNQUEIRA LC, CARNEIRO J.:** Histologia básica. Ed.Salvat.2ªed. Barcelona, 1981; pg:308-318.
- 288 **MADARA JL, TRIER JS.:** Functional morphology of the mucosa of the small intestine. En JOHNSON LR: Physiology of the gastrointestinal tract. Ed. Raven Press. New York, 1987; pg:1209-1249.
- 289 **LEBLOND CP, STEVENS CE.:** The constant renewal of the intestinal epithelium in the albino rat. ANAT REC 1948; 100:357-377.
- 290 **CARDELL RR, BADENHAUSEN S, PORTER KR.:** Intestinal triglyceride absorption in the rat. An electron microscopical study. J CELL BIOL 1967; 34:123-155.
- 291 **HOPFER U.:** Membrane transport mechanisms for hexoses and amino acids in the small intestine. En: JOHNSON LR: Physiology of the gastrointestinal tract. Ed. Raven Press. New York, 1987; pg:1499-1526.
- 292 **LUMLEY JSP, GREEN CJ, LEAR P, et al.:** Anaesthesia. En: LUMLEY JSP, GREEN CJ, LEAR P, et al.: Essentials of Experimental Surgery. Ed. Butterworth and Co. Londres 1990.
- 293 **HAYAT MA.:** Fixation for electron microscopy. Ed. Academic Press. 1988.
- 294 **POTTU-BOUMEDIL J.:** Microscopie électronique. Principes et méthodes de preparation. Ed. Les Editions Inserm. 1989.
- 295 **NUNN RE.:** Electron microscopy, microtomy, staining and specialized techniques. Ed. Butterworth and Co. Londres, 1988.
- 296 **GONZALEZ SANTANDER R.:** Técnicas de microscopía electrónica en biología. Ed. Aguilar. 1988.
- 297 **SONNINO RE, RIDDLE JM, PRITCHARD TJ.:** Grading system for histologic changes in rat small bowel transplants. TRANSPLANT PROC 1992; 24(3):1201-1202.
- 298 **DOMENECH JM.:** Bioestadística: Métodos estadísticos para investigadores. Ed. Herder. Barcelona, 1980.
- 299 **DOMENECH JM, RIBA MD.:** Introducción al análisis de la variancia. Documentos del Laboratori d'Estadística Aplicada i Modelització. Ed. Universitat Autònoma de Barcelona. 1992.

- 300 **DOMENECH JM.:** Regresión lineal simple. Documentos del Laboratori d'Estadística Aplicada i Modelització. Ed. Universitat Autònoma de Barcelona. 1992.
- 301 **KOLTUN WA, KIRKMAN RL.:** Nutritional and metabolic aspects of total small bowel transplantation in inbred rats. *TRANSPLANT PROC* 1987; 19:1120-1122.
- 302 **ZHONG R, GRANT D, SUTHERLAND F, et al.:** Refined technique for intestinal transplantation in the rat. *MICROSURGERY* 1991; 12:268-274.
- 303 **VAN OOSTERHOUT JMA, DE BOER HHM, JERUSALEM CR.:** Small bowel transplantation in the rat: the adverse effect of increased pressure during the flushing procedure of the graft. *J SURG RES* 1984; 36(2):140-146.
- 304 **THALER W, OBERHUBER G, KLIMA G, et al.:** Preservation of small bowel graft: a comparison with two standard solutions. *EUR SURG RES* 1993; 25:181-186.
- 305 **PETTIROSSI O, SAKAI A, KOUNTZ SL.:** Differential survivals of F<sub>1</sub> hybrid allografts in parental recipients. *TRANSPLANTATION* 1976; 21:403-407.
- 306 **HARMEL RP.:** A simplified technique of small intestinal transplantation in the rat. *J PEDIATR SURG* 1984; 19:400-403.
- 307 **WALLANDER J, HOLTZ A, LARSSON E, et al.:** Small-bowel transplantation in the rat with a nonsuture cuff technique. *TRANSPL INT* 1988; 1:135-139.
- 308 **JOHANSSON C, HÄLLGREN R, TUFVESON G.:** Recovery of hyaluronan during perfusion of small bowel transplantation reflects rejection. *TRANSPLANTATION* 1993; 55(3):477-479.
- 309 **LANGREHR JM, DEMETRIS AJ, BANNER B, et al.:** Mucosal recipient-type mononuclear repopulation and low-grade chronic rejection occur simultaneously in indefinitely surviving recipients of small bowel allografts. *TRANSPL INT* 1994; 7:71-78.
- 310 **KOLTUM WA, MADARA JL, SMITH RJ, et al.:** Metabolic aspects of small bowel transplantation in inbred rats. *J SURG RES* 1987; 42:341-347.
- 311 **YAMAKATA T, KOBAYASHI H, YAGITA H, et al.:** The effect of anti-ICAM-1 Monoclonal antibody treatment on the transplantation of the small bowel in rats. *J PEDIATR SURG* 1993; 28(11):1451-1457.
- 312 **ISHII H, HASHIMOTO N, KITADA T, et al.:** Malabsorption after small bowel transplantation. *HEPATO GASTROENTEROL* 1993; 40:282-284.
- 313 **STENLING R, HELANDER HF.:** Stereological studies on the small intestinal epithelium of the rat: 1. The absorptive cells of the normal duodenum and jejunum. *CELL TISSUE RES* 1981; 217:11-21.
- 314 **CARRERAS O, VAZQUEZ AL, BOLUFER J, et al.:** The influence of jejunoileal by pass on villous and mucosal surface area in rats. *J CLIN NUTR GASTROENTEROL* 1987; 4:182-186.
- 315 **PORTUGAL V, GARCIA ALONSO I, BILBAO J, et al.:** Estudio de la acción hepatotrófica de la ciclosporina A en un modelo de isquemia hepática en la rata. *REV ESP ENF DIGEST* 1993; 83(4):255-259.

- 316 **FRANCAVILLA A, STARZL TE, BARONE M, et al.:** Studies on mechanisms of augmentation of liver regeneration by Cyclosporine and FK506. *HEPATOLOGY* 1991; 14(1):140-143.
- 317 **PERNTHALER H, PFURTSCHELLER G, KLIMA G, et al.:** Regeneration of sympathetic activities in small bowel transplants. *EUR SURG RES* 1993; 25:316-320.
- 318 **SCHWEIZER E, GASSEL AM, DELTZ E, et al.:** A comparison of preservation solutions for small bowel transplantation in the rat. *TRANSPLANTATION* 1994; 57(9):1406-1408.
- 319 **MÜELLER AR, NALESNIK MA, LANGREHR JM, et al.:** Evidence that small bowel preservation causes primarily basement membrane and endothelial rather than epithelial cell injury. *TRANSPLANTATION* 1993; 56(6):1499-1504.
- 320 **SARR MG, WALTERS AM, BENSON JT, et al.:** Absorption of simple nutrients from the in vivo neurally isolated canine jejunum and ileum. *SURGERY* 1994;115(5):578-587.
- 321 **ISHII H, KUSUNOKI M, FUJITA S, et al.:** Changes of intestinal motility after small bowel transplantation in the rat. *TRANSPLANTATION* 1994; 57(8):1149-1152.
- 322 **SCHLEMMINGER R, LOTTERMOSER S, GIESELER RKH, et al.:** The adaptative response of the rat small intestine after resection and segmental transplantation during the early postoperative phase. *RES EXP MED* 1993; 193:213-224.
- 323 **DENNISON AR, COLLIN J, WATKINS RM, et al.:** Absortive and motor function of orthotopically vascularized segmental ileal autografts. *BR J SURG* 1987; 74:187-191.
- 324 **KIMURA K, LAROSA CA, BLANK MA, et al.:** Successful segmental intestinal transplantation in enterectomized pigs. *ANN SURG* 1990; 211:158-164.
- 325 **THOMPSON JS, ROSE SG, SPANTA AD, et al.:** The long-term effect of jejunoileal autotransplantation on intestinal function. *SURGERY* 1992; 111:62-68.
- 326 **OBERHUBER G, SCHMID TH, THALER W, et al.:** Increased number of intraepithelial lymphocytes in rejected small bowel allografts: an analysis of subpopulations involved. *TRANSPLANT PROC* 1990; 22(6):2454-2455.
- 327 **YAMATAKA A, MIYANO T, KATO Y, et al.:** Ultrastructural changes in the microvilli as a marker of small bowel rejection. *JPN J SURG* 1993; 23:984-987.
- 328 **POWELL DW.:** Intestinal water and electrolyte transport. En: *JOHNSON LR: Physiology of the gastrointestinal tract*. Ed. Raven Press. New York, 1987; pg:1267-1305.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL

Mercè Hernández i González

ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI  
ESTUDI DE L'EVOLUCIÓ MICROMORFOLÒGICA I FUNCIONAL DEL TRANSPLANTAMENT INTESTINAL EXPERIMENTAL  
Mercè Hernández i González  
ISBN:978-84-693-6289-1/DL:T-1606-2010

