

◆ MANUSCRITO ORIGINAL

Impacto de las lesiones por isquemia-reperfusión en la supervivencia alejada de ratas con trasplante intestinal

Natalia Lausada,^{1,2} Pablo Stringa,^{1,2} Ana Cabanne,¹ Diego Ramisch,¹ Mariana Machuca,² Flavio Galvao,³ Silvia Coronato,² Jorge Clemente Raimondi,² Gabriel Gondolesi¹

¹ Instituto de Trasplante Multiorgánico. Fundación Favaloro.

² Laboratorio-Programa de Trasplante de Órganos y Tejidos Facultad de Ciencias Médicas-Universidad Nacional de La Plata.

³ Transplante e Cirugía do Fígado Sao Paulo-SP, Brazil.

Acta Gastroenterol Latinoam 2011;41:129-136

Resumen

Introducción. El intestino es un órgano altamente sensible a la injuria por isquemia y reperfusión (I-R) y responde de manera temprana aumentando su permeabilidad. Posteriormente, esta respuesta se traduce en cambios morfológicos e histológicos que ponen de manifiesto el daño causado por la injuria. El trasplante heterotópico intestinal en ratas permite evaluar las lesiones por I-R sin comprometer la supervivencia del animal. **Objetivo.** Establecer una relación entre el grado de lesión por I-R con la supervivencia prolongada del animal. **Métodos.** Se incluyeron 10 trasplantes de intestino en ratas Wistar, machos, adultas e isogénicas. Las biopsias ileales se tomaron: 1) inmediatamente post-dissección, 2) al final de la isquemia fría, 3) a los 30 minutos de la reperfusión, 4) a las 48 horas post-trasplante y 5) a los 5 días de supervivencia, reportadas según la clasificación de Park e inmunomarcación a malondialdehído (MDA). **Resultados.** Los índices de Park obtenidos fueron 1) $0,57 \pm 1,13$ (N=10); 2) $2,71 \pm 1,25$ (N=10); 3) $4,14 \pm 0,89$ (N=10); 4) $1,0 \pm 0,81$ (N=7); 5) 0 (N=7). A los 30 min de la reperfusión se manifiestan grados elevados hasta 3 lo cual significa entre un 51% a 75% de extensión de la inmunomarcación a MDA en las células endoteliales de los capilares de la lámina propia. Tres animales murieron a las 48 horas, los cuales presentaron Park superior a 4 a los 30 min de la reperfusión y clínicamente signología compatible con endotoxemia. **Conclusio-**

nes. El daño tisular más severo se observó en la post-reperfusión inmediata. A las 48 horas el tejido tiende a normalizarse. Las lesiones por I-R a los 30 min post-reperfusión impactan significativamente en la supervivencia alejada del animal.

Palabras claves. Injuria por isquémica-reperfusión, isogénicas, intestino/método/trasplante, patología.

Impact of ischemia-reperfusion injury on long survival rate in intestinal transplantation in rats

Summary

Introduction. The intestine is a highly sensitive tissue to ischemia-reperfusion (IR) injury that will early respond increasing its permeability. Later this response is translated in morphologic and histological changes that reveal the degree of damage. The heterotopic intestinal transplantation model in rats allows to evaluate the evolution of intestinal tissue injury after ischemia-reperfusion without affecting the long survival rate. **Objective.** The aim of this paper is to establish a relationship between the ischemic reperfusion injury with the long-term survival. **Methods.** Ten intestinal transplants were analyzed in adult, Wistar, inbred, male rats. Light microscopical examination was performed on intestine graft: 1) immediately post-dissection, 2) at the end of cold ischemia, 3) 30 min, 4) 48hs and 5) 5 days post-transplant procedure, respectively. Biopsies were reported according to Park's classification and extension of staining using immunohistochemistry to malondialdehyde (MDA) products. **Results.** The Park's classification indexes reported in samples were 1)

Correspondencia: Natalia Lausada

Laboratorio de Microcirugía Experimental-Quirófano Experimental, Instituto de Trasplante Multiorgánico, Universidad-Fundación Favaloro. Solís 453, Capital Federal, Buenos Aires, Argentina.
Tel./fax: 54-11-4378100 Interno 3180
E-mail: nlausada@gmail.com

0,57±1,13 (N=10); 2) 2,71±1,25 (N=10); 3) 4,14±0,89 (N=10); 4) 1,0±0,81 (N=7); 5) 0 (N=7). The highest levels of immunohistochemical detection of MDA were observed thirty minutes post-reperfusion (extension of staining between 51% to 75%). Three animals died when they were sampled at 48 hours, and the biopsies had Park's classification ≥ 4 at 30 minutes post-reperfusion and endotoxemic signology. **Conclusions.** The highest degree of mucosal damage was observed immediately post-reperfusion. At 48hs the graft tended to be normalized. Failure to repair the immediately I-R injury significantly affects the long term survival.

Key words. Ischemia-reperfusion injury; rats, isogenic/methods intestines/transplantation, pathology.

Abreviaturas.

(I-R) isquemia y reperusión.

(Min) minutos.

(H/E) hematoxilina-eosina.

Actualmente, el trasplante intestinal como opción terapéutica para pacientes con insuficiencia intestinal y complicaciones vitales asociadas a la nutrición parenteral total constituye un gran desafío. La injuria asociada a la isquemia intestinal provocada desde la extracción y su posterior reperusión al momento del implante, el rechazo y las infecciones continúan siendo las principales causas de morbilidad postoperatoria.¹⁻⁴ La injuria por isquemia y reperusión (I-R) es la complicación inmediata capaz de comprometer la funcionalidad y la supervivencia inicial del injerto y del paciente.¹ El intestino post-isquémico al ser reperfundido libera mediadores proinflamatorios tales como citoquinas, lipopolisacáridos y radicales libres del oxígeno y del nitrógeno en forma proporcional al grado de injuria local, induciendo una respuesta inflamatoria sistémica y falla multiorgánica que podrá impactar en la vida del receptor.⁵ Con el objetivo de mitigar el efecto deletéreo de la lesión por I-R intestinal se han evaluado distintas estrategias que permanecen aún en etapas experimentales, entre las que se pueden citar maniobras quirúrgicas tales como el preconditionamiento isquémico⁶ y recientemente el postcondicionamiento isquémico;^{7,8} y pretratamientos al donante con antioxidantes e inmunosupresores.⁹ El estudio de esta problemática en modelos experimentales de trasplante permite reproducir los pasos clásicos del trasplante clínico (isquemia fría, calien-

te y reperusión).¹⁰ El trasplante heterotópico en la rata es particularmente apropiado para el muestreo seriado de biopsias intestinales aún desde momentos inmediatos del implante dado que no compromete la supervivencia del animal.¹¹⁻¹³ Las biopsias seriadas para evaluar las lesiones por I-R son analizadas por microscopía óptica mediante la escala de Park¹⁴ aplicada específicamente para establecer el grado de compromiso histopatológico del intestino como consecuencia de las lesiones por I-R.

El objetivo del presente trabajo es describir detalladamente los hallazgos histológicos en intestinos trasplantados entre ratas endocriadas de acuerdo a la escala de Park.¹⁴ Establecer una relación entre el grado de lesión en las muestras a los 30 minutos post-reperusión con la supervivencia alejada del animal. Hemos considerado supervivencia prolongada los 5 días post-operatorios dado que el tejido intestinal se encuentra normal. Se ha reportado en la literatura que las muertes producidas en las primeras 24 horas del postoperatorio generalmente son causadas por fallas en la técnica quirúrgica.¹¹⁻¹³

Materiales y métodos

Se utilizaron 28 ratas Wistar isogénicas, machos, adultos para realizar 14 trasplantes heterotópicos de intestino. Con motivo de realizar un análisis con datos que no presenten una gran dispersión y no atribuir a defectos en la técnica quirúrgica se excluyeron tanto los procedimientos cuyos tiempos quirúrgicos del donante o del receptor superaron los 120 minutos como aquellos en los que el implante llevara más de 45 minutos. El tiempo crítico de isquemia fría no debía ser superior a los 180 minutos ya que se utilizó solución de Ringer Lactato a 4°C para lavar y preservar el intestino, tal como describen otros autores.¹² Además, se descartaron los animales que se hallaron muertos en las primeras 24 horas postquirúrgicas, dado que hemos atribuido este hecho a defectos técnicos. Finalmente, se incluyeron en el análisis 10 trasplantes intestinales.

La técnica utilizada siguió la descripción de Monchic y Russel,¹⁵ modificada por Zhong y col.¹² Brevemente, las ratas donantes y receptoras fueron anestesiadas con una combinación de ketamina (100 mg/kg), diazepam (10 mg/kg) y atropina (0,01 mg/kg), administrada por vía intraperitoneal. Una vez anestesiado el animal se abordó el abdomen por una laparotomía xifopúbica y, luego de disecar el li-

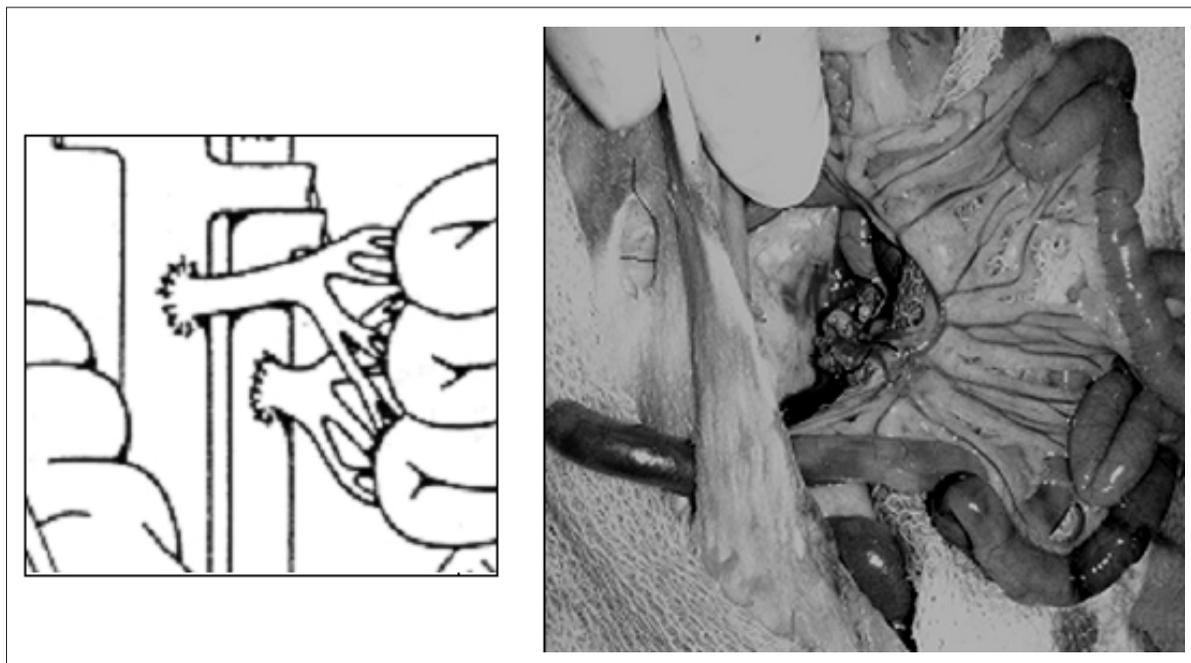
gamento de Treitz se preparó la vena porta ligando y seccionando las venas pilórica, esplénica y colónica izquierda. El pedículo arterial compuesto de la arteria mesentérica, en continuidad con un segmento de arteria aorta, se preparó ligando y seccionando las arterias ileocecolíaca, colónica izquierda, renal derecha y tronco celíaco. El intestino fue lavado a través de la arteria aorta y la solución fluyó a través de la vena porta. Se seccionó la vena porta en su origen, luego de constatar un tono pálido homogéneo en el intestino a extraer. En el receptor se abordó el abdomen por laparotomía xifopúbica y el injerto intestinal fue implantado con anastomosis término-lateral entre la arteria aorta del donante y la arteria aorta infrarrenal del receptor, y la vena porta del donante con la vena cava infrarrenal del receptor. Se utilizó para las anastomosis material de sutura nylon monofilamento 9-0 y 10-0, respectivamente (Figura 1). Tanto para la extracción del órgano como para su implante en el receptor se magnificó el campo operatorio mediante el empleo de un microscopio quirúrgico (10 X). Los extremos intestinales del implante fueron abocados al flanco del animal siguiendo la técnica de eversión de mucosa.¹⁶

Los receptores fueron biopsiados a nivel ileal de

acuerdo al siguiente protocolo: 1) inmediatamente post-disección, 2) al final de la isquemia fría (también llamado pre-implante), 3) a los 30 minutos de la reperfusión, 4) a las 48 horas post-trasplante y 5) a los 5 días de supervivencia. Las muestras obtenidas fueron fijadas en formol al 10% y teñidas con H/E. El grado de injuria por I-R fue reportado según la clasificación de Park:¹⁴ 0) representa mucosa normal, 1) espacio subepitelial a nivel de la punta de la vellosidad, 2) espacio subepitelial extendido (compromete toda la vellosidad), 3) desprendimiento epitelial 4) vellosidades denudadas, 5) pérdida del tejido veloso, 6) infarto de las criptas, 7) infarto mucoso, 8) infarto transmural.

A partir de las muestras incluidas en parafina se realizó inmunohistoquímica para evaluar un marcador clásico de estrés oxidativo. El malondialdehído (MDA) es un producto directo de la acción de los radicales libres de oxígeno sobre los ácidos grasos polinsaturados de la membrana celular. Se obtuvieron secciones de 4 μ que fueron colocadas en porta objetos previamente tratados con polilicina-2, desparafinadas con xilol y deshidratados con alcohol en concentraciones decrecientes. El bloqueo de la peroxidasa endógena fue realizado en metanol al 0,3%

Figura 1. Foto y esquema del implante heterotópico intestinal en la rata.



(#) Intestino trasplantado, (*) intestino nativo; (flecha blanca superior) incisión en piel para realizar la ileostomía proximal, (flecha blanca inferior) exteriorización del intestino trasplantado al flanco del animal para realizar posteriormente la ileostomía, (flecha negra superior) indica la anastomosis venosa porto-cava que se representa en el esquema a la izquierda de la foto. (flecha negra inferior) Indica la anastomosis arterial aorto-aórtica que se representa en el esquema a la izquierda de la foto, vena cava (VC), arteria aorta (AO).

durante 30 minutos. La recuperación antigénica fue realizada utilizando microondas a 750 W durante 15 minutos empleando una solución de citrato trisódico 0,01 mol/L a un pH 6,0. Para el bloqueo de las uniones inespecíficas las muestras fueron tratadas con suero equino al 10% en PBS. Posteriormente a la incubación de las muestras con el anticuerpo policlonal anti-MDA ab6463 (*Abcam 6463* Cambridge, USA),¹⁷ las mismas fueron incubadas con el complejo avidina-biotina-peroxidasa de acuerdo a las indicaciones del fabricante (*Vectastain, Universal Quick Kits; Vector Laboratories Ltd, Peterborough, Inglaterra*). El revelado fue realizado mediante el empleo de 3,3'-diaminobenzidina (Sigma). Para realizar los controles negativos se omitió la incubación con el anticuerpo primario. La expresión de MDA fue calculada analizando 10 campos X400, utilizando una escala semicuantitativa de 0 a 4 donde 0 corresponde del 1% al 5% de inmunomarcación, 1 a 5% al 25%, 2 del 26% al 50%, 3 del 51% al 75% y 4 a más del 75%. Cada grado refleja la extensión de la inmunomarcación más que la intensidad de la misma.

Cuidados pre y postquirúrgicos

Las ratas fueron alojadas e intervenidas quirúrgicamente en el Bioterio-Quirófano Experimental de la Universidad/Fundación Favaloro donde se les brindó los cuidados estandarizados en condiciones micro y macroambientales apropiadas. El mismo se encuentra aprobado por organismos de control nacionales (GMP Disposición ANMAT 6344/96) e internacionales [*USA Animal Welfare Assurance: Office of laboratory Animal Welfare (OLAW) at National Institutes of Health. Acreditación A5556-1. <http://grants.nih.gov/grants/olaw/assurance/500index.htm?Country=AR#GridTop>*]

Análisis estadístico

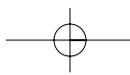
Se realizó estadística descriptiva. El grado de injuria por I-R se reportó como media \pm DS para cada biopsia/tiempo y se aplicó análisis de varianza (ANOVA). Se utilizó el método de Kaplan-Meier para analizar la supervivencia actuarial y se compararon los grupos mediante el log rank test, considerándose en ambos casos como diferencia estadísticamente significativa una $P < 0,05$. Además, se reportaron los tiempos quirúrgicos del donante y del receptor, y los tiempos de isquemia caliente y fría. Estos datos se presentan como media \pm DS.

Resultados

Los tiempos quirúrgicos del donante y del receptor fueron de 100 ± 5 minutos y 90 ± 15 minutos. Los tiempos de isquemia caliente, fría y total fueron de 34 ± 5 minutos; 118 ± 6 minutos y 153 ± 15 minutos, respectivamente.

La Figura 2 detalla el índice de Park promedio obtenido en los distintos tiempos de muestreo. El daño más severo se observó en las biopsias a los treinta minutos de la reperusión (Park: $2,71 \pm 1,25$ pre-implante Vs. $4,14 \pm 0,89$ a los 30 minutos post-reperusión, $P < 0,001$), constatándose pérdida de las vellosidades e infarto transmural en algunas muestras, como se puede observar en las Figuras 3 a 5. Las biopsias a las 48 horas mostraron una tendencia a la normalización (Park: $1,0 \pm 0,8$), valores que no presentaron diferencias significativas al compararlas con los valores de Park post-disección (Park: $0,57 \pm 1,13$), demostrando además una recuperación del tejido vellososo severamente dañado a los 30 minutos post-reperusión [Park: $1,0 \pm 0,81$ a las 48 hs post-reperusión Vs. $4,14 \pm 0,89$ a los 30 min post-reperusión ($P < 0,001$)]. A los 5 días de supervivencia la mucosa se halló normal en el estudio histopatológico (Park: 0) (Figura 6). Tres ratas murieron al biopsiarlas a las 48 horas. Estos animales no se encontraban vitales como los 7 restantes que sobrevivieron satisfactoriamente a la toma de muestras y presentaban grados superiores a 4 de índice de Park (Figura 3 a 5). Dividimos la serie total según el índice de Park observado a los 30 minutos de reperusión, dado que las tres ratas que murieron a las 48 hs presentaban un índice de Park superior a 4 (6, 6 y 8, respectivamente). Hemos dividido la serie total de 10 trasplantes en un grupo de 7 animales cuyos índices de Park fueron inferiores a 4 y en uno de 3 animales cuyos índices de Park fueron superiores a 4 a los 30 minutos post-reperusión. Al comparar la curva de supervivencia de ambos grupos se observaron diferencias altamente significativas ($P < 0,001$), concluyéndose que la pérdida total del tejido vellososo afecta la supervivencia alejada de los animales (Figura 7).

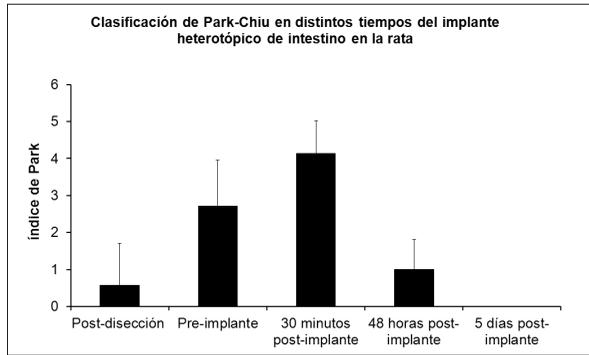
La expresión de MDA se detalla en la (Tabla 1). Particularmente la inmunomarcación fue observada en las células endoteliales de los capilares de la lámina propia y de la capa muscular a los 30 minutos post-reperusión, mientras que las células epiteliales solo presentaron valores superiores a 5% de marcación si se encontraban descamadas. En la fase críti-



ca, a los 30 minutos de la reperfusión, se manifestaron grados elevados hasta 3, indicando entre un 51% a 75% de extensión de la inmunomarcación en las células endoteliales de los capilares de la lámina propia. El mayor grado de expresión de MDA coincide con los valores de índice de Park elevados. Co-

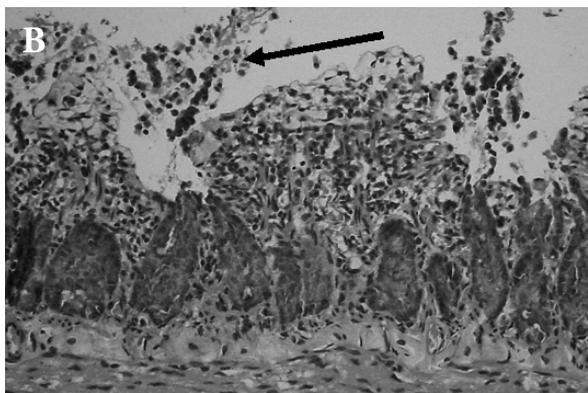
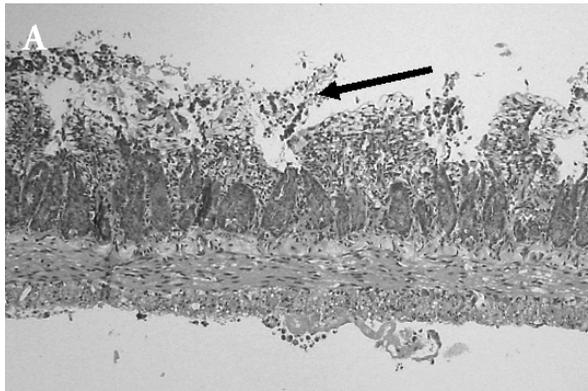
mo era de esperar, las muestras post-disección y pre-implante carecían de una expresión superior al 5% por no haber estado sometidas a reperfusión. No obstante, es importante remarcar que con esta técnica es posible identificar la zona de endotelio capilar más sensible a I-R (Tabla 1).

Figura 2. Reporte del daño histológico según el índice de Park en distintos tiempos del implante heterotópico de intestino en la rata.



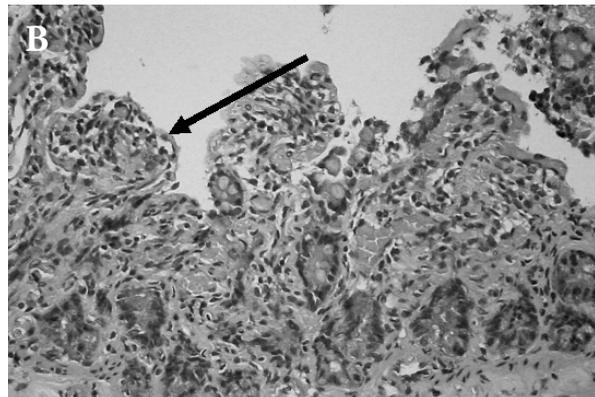
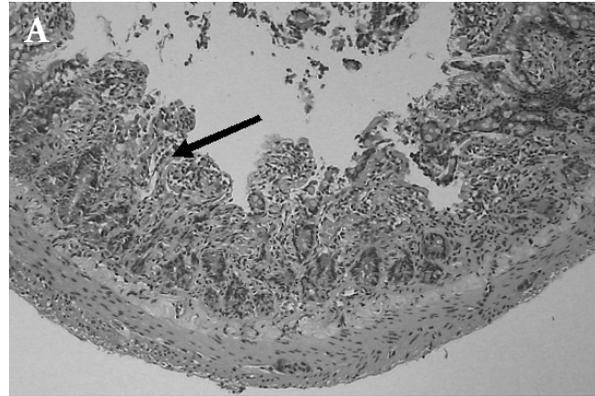
Los resultados se expresan como media \pm DS de 10 determinaciones en todos los tiempos evaluados a excepción de las 48 horas y los 5 días postrasplante en los que sobrevivieron 7 animales.

Figuras 3, A y B. Park 5: pérdida del tejido veloso (flecha negra).



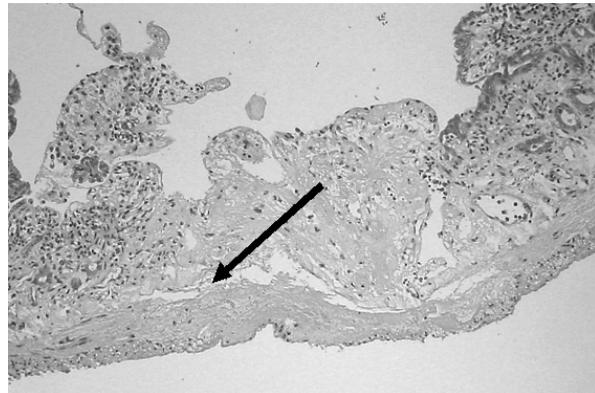
Tinción: hematoxilina-eosina, objetivo 10X (A) y 40X (B).

Figuras 4, A y B. Park 6: infarto de las criptas (flecha negra).

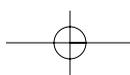


Tinción: hematoxilina-eosina, objetivo 10X (A) y 40X (B).

Figuras 5. Park 8: infarto transmucoso (flecha negra).



Tinción: hematoxilina-eosina, objetivo 10X (A) y 40X (B).

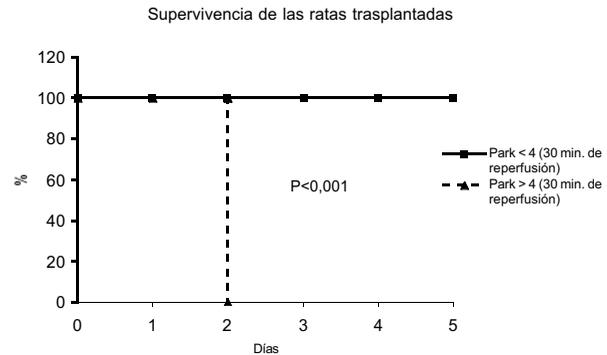


Figuras 6. Park 0: imagen panorámica de la histología normal del intestino de la rata.



Tinción: hematoxilina-eosina, objetivo 10X

Figura 7. Curva de supervivencia según el índice de Park observado a los 30 minutos de reperfundión.



Las ratas trasplantadas con índice de Park menor o igual a 4 a los 30 minutos de reperfundión obtuvieron supervivencia alejada mayor respecto de aquellas con Park mayor a 4 a los 30 minutos de reperfundión, con diferencias altamente significativas.

Tabla 1. Expresión de MDA mediante inmunohistoquímica en los diferentes tiempos del procedimiento y su relación con el índice de Park.

	Capilares de la lámina propia	Capilares de la capa muscular	Células de la lámina propia	Células epiteliales	Índice de Park
Post-disección	0	0	0	0	0,57±1,13
Pre-implante	0	0	0	0	2,71±1,25
Post-reperfundión	1 a 3	0 a 1	0	0 a 2	4,14±0,89

Los datos representan el rango de inmunomarcación de MDA, expresado en grados de 1 a 4 según el porcentaje de células positivas (extensión de la inmunomarcación).

Discusión

El tejido intestinal es probablemente el órgano más susceptible a la injuria por I-R. Ésta se traduce en disfunción intestinal prolongada, pérdida de la barrera intestinal, traslocación bacteriana y sepsis, culminando en una respuesta inflamatoria sistémica y falla multiorgánica.¹⁸ Este fenómeno se exagera si a las lesiones provocadas por I-R se asocian factores inmunológicos de daño del injerto como sucede en el trasplante clínico o en los roedores exocriados trasplantados.

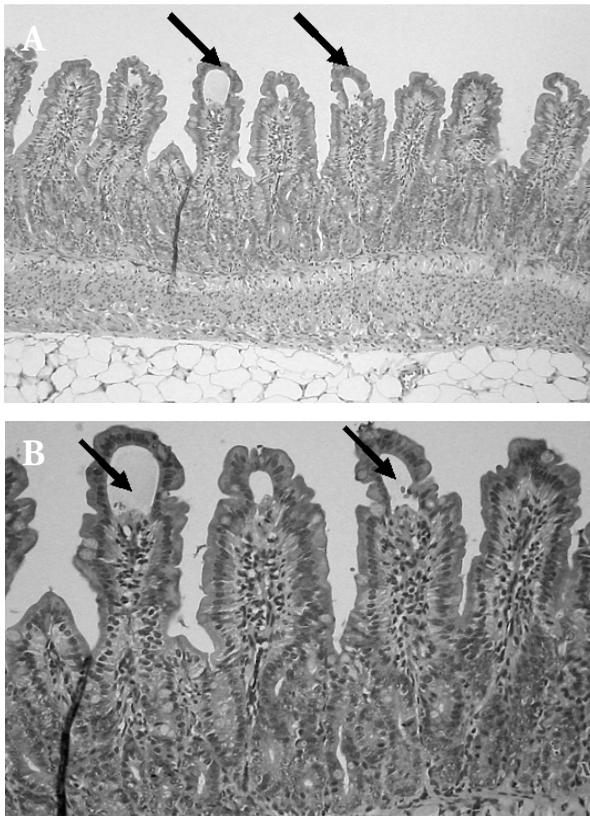
En la secuencia de reproducción de la técnica quirúrgica de trasplante de intestino en la rata, según ha sido descrita por otros autores y en nuestra experiencia,¹¹⁻¹³ tanto del modelo heterotópico como ortotópico, hemos observado que el punto crítico de estas técnicas microquirúrgicas se encuentra en la reperfundión. Si se presenta pérdida de tejido vellosos o infarto de las criptas inmediatamente posterior a la reperfundión, no es posible obtener una supervivencia prolongada del animal. De nuestros resultados se desprende que un grado de índice de Park superior

a 4 a los 30 minutos de la reperfundión es incompatible con una supervivencia posterior a las 48 horas (Figura 7). La razón de haber obtenido este resultado en tres animales probablemente sea un mayor manipuleo del intestino durante su extracción. Schaefer y col han descrito el rol de los macrófagos residentes en la musculatura intestinal, los cuales bajo condiciones fisiológicas residen en un estado quiescente.¹⁹ Sin embargo, ante la manipulación del intestino, son capaces de activarse con una respuesta severa celular y molecular que provoca un descenso en la motilidad intestinal y exagera la sepsis promovida por la ruptura de la barrera mucosa. Estos animales presentan incoordinación, ataxia, opistótono, letargia y piloerección, signología compatible con un cuadro de endotoxemia. Llegamos a esta conclusión ya que errores más evidentes en la técnica quirúrgica, tales como hemorragia o torsión del pedículo vascular, comprometen la supervivencia inmediata (primeras 24 horas) o intra-quirúrgica. Tal como detallamos en los métodos, estos animales han sido excluidos del análisis. Las siete ratas que se

encontraban clínicamente recuperadas evidenciaron un comienzo en la normalización de la mucosa y las biopsias revelaron espacio subepitelial en 2 muestras (Park 1, Figura 8), espacio subepitelial extendido en 1 (Park 2, Figura 9) y mucosa normal en las restantes (Park 0, Figura 6).

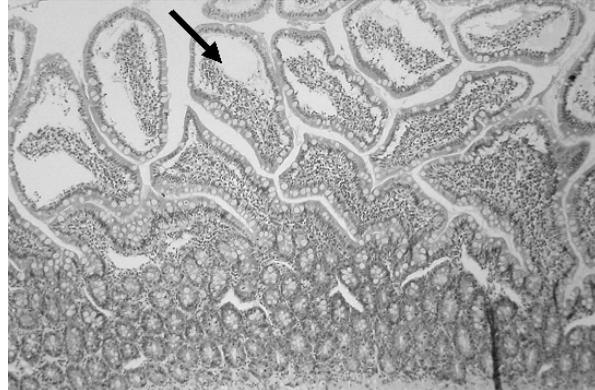
El daño observado es atribuible únicamente a la injuria por I-R, por tratarse de ratas isogénicas o endocriadas a las que un 98,4% de homocigosis les confiere tolerancia inmunológica al recibir un órgano o tejido de un animal de la misma cepa endocriada. Por lo tanto, toda lesión que se presente será por causas no inmunológicas del trasplante tales como la lesión por I-R. La lesión tisular que acompaña al proceso de I-R implica cambios profundos en la membrana celular. El daño se inicia como consecuencia de la actividad de la enzima fofolipasa A2, con la subsiguiente liberación de ácidos grasos polinosaturados de la membrana, particularmente ácido araquidónico. La presencia de radicales libres de oxígeno generados durante la reperfusión oxida los ácidos grasos polinosaturados y otras biomoléculas

Figuras 8, A y B. Park: espacio subepitelial (flecha negra).



Tinción: hematoxilina-eosina, objetivo 10X (A) y 40X (B).

Figuras 9. Park 2: espacio subepitelial extendido (flecha negra).



Tinción: hematoxilina-eosina, objetivo 25X.

generando MDA,²⁰ lo cual es confirmado por nuestros resultados. Hemos observado que en la fase crítica a los 30 minutos de la reperfusión se manifiestan grados elevados hasta 3 que significa entre un 51 a 75% de extensión de la inmunomarcación en las células endoteliales de los capilares de la lámina propia, mientras que en los tiempos de muestreo post-disección y pre-implante, cuando el tejido no ha sufrido aún la reperfusión, la inmunomarcación es inferior al 5% (grado 0) (Tabla 1). El primer blanco de la lesión oxidativa es el endotelio vascular para luego extenderse al resto de la arquitectura del órgano. Evaluar el MDA en biopsias inmediatas a la reperfusión del órgano nos permitiría valorar tempranamente el grado de compromiso del endotelio capilar.

Así, todo procedimiento capaz de atenuar el daño observado en las células epiteliales de la vellosidad y endoteliales de los capilares en el momento crítico, a los 30 minutos post-reperfusión, sería altamente satisfactorio en cuanto a su impacto en la morbimortalidad posterior. Además, los factores no-inmunológicos de daño del injerto exacerbaban la inmunogenicidad del mismo.⁹ Los resultados obtenidos se constituirían en una herramienta básica para trabajos posteriores donde el objetivo sería obtener grados de índice de Park menores, con la consiguiente normalización temprana de la mucosa intestinal, buscando estrategias para atenuar las lesiones por I-R y mejorar la calidad del injerto intestinal.

Agradecimientos: Al personal del Bioterio-Quirófano Experimental de la Fundación/Universidad Favaloro, Dres María Inés Bensanson y Pedro Iguain; y al personal técnico, Sres Julio Martínez, Fabián Gauna, Os-

valdo Sosa, Juan Carlos Mansilla y Juan Rodolfo Ocampo.

Sostén financiero: *Unidad de Nutrición, Rehabilitación y Trasplante Intestinal Universidad - Fundación Favaloro. Este proyecto pudo concretarse gracias a los apoyos para la investigación otorgados por Fresenius-Kabi, Gador y Weyth.*

Referencias

1. Yandza T, Schneider SM, Canioni D, Saint-Paul MC, Gugenheim J, Chevalier P. Intestinal transplantation. *Gastroenterol Clin Biol* 2007;31:469-479.
2. Wolfard A, Kaszaki J, Varga S, Lazar G, Boros M. Early microcirculatory changes after ischemic preconditioning and small bowel autotransplantation. *Eur Surg Res* 2007;39:284-290.
3. Soondrum K, Hinds R. Management of intestinal failure. *Indian J Pediatr* 2006;73:913-918.
4. Prasad KR, Pollard SG. Small bowel transplantation. *Curr Opin Gastroenterol* 2000;16:126-133.
5. Oltean M, Zhu C, Mera S, Pullerits R, Mattsby-Baltzer I, Molne J, Halberg E, Blomgren K, Olausson P. Reduced liver injury and cytokine release after transplantation of preconditioned intestines. *J Surg Res* 2009;154:30-37.
6. Jacome DT, Abrahao MS, Morello RJ, Martins JL, Medeiros AC, Montero EF. Different intervals of ischemic preconditioning on small bowel ischemia-reperfusion injury in rats. *Transplant Proc* 2009;41:827-829.
7. Liu KX, Li YS, Huang WQ, Chen SQ, Wang ZX, Liu JX, Xia Z. Immediate postconditioning during reperfusion attenuates intestinal injury. *Intensive Care Med* 2009;35:933-942.
8. Dos Santos CH, Pontes JC, Gomes OM, Mijji LN, Bispo MA. Evaluation of ischemic postconditioning effect on mesenteric ischemia treatment: experimental study in rats. *Rev Bras Cir Cardiovasc* 2009;24:150-156.
9. Oltean M, Pullerits R, Zhu C, Blomgren K, Hallberg EC, Olausson M. Donor pretreatment with FK506 reduces reperfusion injury and accelerates intestinal graft recovery in rats. *Surgery* 2007;141:667-677.
10. Santiago SF, Fukuzawa M, Azuma T, Okada A. Effect of donor pretreatment with FK 506 upon small intestine allotransplantation in rats. *Transplant Proc* 1991;23:3243-3245.
11. Zhou HJ, Yin L, Zhang MJ. Refined techniques for intestinal transplantation in rat. *Transplant Proc* 2006;38:3094-3096.
12. Zhong R, Grant D, Sutherland F, Wang PZ, Chen HF, Lo S, Stiller C, Duff J. Refined technique for intestinal transplantation in the rat. *Microsurgery* 1991;12:268-274.
13. Zhang XQ, Sun JL, Ma R, Fan ZY, Dai Y, Sun JZ. Simplified techniques in rat heterotopic small bowel transplantation. *Transplant Proc* 2006;38:1840-1841.
14. Park PO, Haglund U, Bulkley GB, Falt K. The sequence of development of intestinal tissue injury after strangulation ischemia and reperfusion. *Surgery* 1990;107:574-580.
15. Monchik GJ, Russell PS. Transplantation of small bowel in the rat: technical and immunological considerations. *Surgery* 1971;70:693-702.
16. Konigsrainer A, Ladurner R, Iannetti C, Steurer W, Ollinger R, Offner F, Kreczy A, Margreiter R. The "Blind Innsbruck Ostomy", a cutaneous enterostomy for long-term histologic surveillance after small bowel transplantation. *Transpl Int* 2007;20:867-874.
17. Fan LW, Mitchell HJ, Tien LT, Rhodes PG, Cai Z. Interleukin-1beta-induced brain injury in the neonatal rat can be ameliorated by alpha-phenyl-n-tert-butyl-nitron. *Exp Neurol* 2009;220:143-153.
18. Kalia N, Wood RF, Pockley AG, Brown NJ. Mucosal villus microcirculatory disturbances associated with rat intestinal ischaemia-reperfusion injury are not prevented by tacrolimus. *Digestion* 2003;67:154-160.
19. Schaefer N, Tahara K, Schmidt J, Zobel S, Kalff JC, Hirner A, Turler A. Mechanism and impact of organ harvesting and ischemia-reperfusion injury within the graft muscularis in rat small bowel transplantation. *Transplant Proc* 2006;38:1821-1822.
20. Ozdemir OM, Ergin H, Yenisey C, Turk NS, Simsek NG. Protective effects of clarithromycin in rats with hypoxia/reoxygenation-induced intestinal injury. *J Pediatr Surg* 2010;45:2169-2174.