

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Anatomía Patológica



TESIS DOCTORAL

**Utilidad de la histopatología en el trasplante intestinal en el adulto:
estudio macroscópico, microscópico e inmunohistoquímico de biopsias y
piezas de resección de los injertos intestinales : Programa de
Trasplantes HU 12 de octubre**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Patricia Lucía López García

Directores

Enrique Moreno González
Francisco Colina Ruizdelgado

Madrid, 2014

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Anatomía Patológica



**UTILIDAD DE LA HISTOPATOLOGÍA EN EL TRASPLANTE
INTESTINAL EN EL ADULTO: Estudio macroscópico, microscópico e
inmunohistoquímico de biopsias y piezas de resección de los injertos
intestinales. Programa de Trasplantes HU 12 de Octubre.**

TESIS DOCTORAL

PATRICIA LUCÍA LÓPEZ GARCÍA

Madrid, 2013

D. Enrique Moreno González, Catedrático Emérito del Departamento de Cirugía de la Universidad Complutense de Madrid.

D. Francisco Colina RuizDelgado, Profesor Asociado del Departamento de Anatomía Patológica de la Universidad Complutense de Madrid.

CERTIFICAN:

Que **Dña. Patricia Lucía López García**, ha realizado bajo nuestra dirección el trabajo “Utilidad de la histopatología en el trasplante intestinal en el adulto: estudio macroscópico, microscópico e inmunohistoquímico de biopsias y piezas de resección de los injertos intestinales. Programa de Trasplantes HU 12 de octubre”. Que a nuestro juicio reúne las condiciones para optar al Grado de Doctor. Para que así conste, firmamos el presente certificado en Madrid a 16 de Septiembre del año dos mil y trece.

Vº Bº Directores de la Tesis Doctoral

Dr. Enrique Moreno González
Catedrático Emérito
Departamento de Cirugía
Facultad de Medicina
Universidad Complutense de Madrid

Dr. Francisco Colina RuizDelgado
Profesor Asociado
Departamento de Anatomía Patológica
Facultad de Medicina
Universidad Complutense de Madrid

Este trabajo está dedicado especialmente a mi padre. Hombre trabajador y sacrificado que por los infortunios de la vida no pudo llegar a ver como la única hija que emprendía el reto de hacer una carrera finalmente alcanzaba el sueño de ser médico...

Agradecimientos

Dicen que es de bien nacidos ser agradecidos...y en mi caso debo darles las gracias a muchas personas. Las dos primeras a las que debo estar agradecida de poder presentar este trabajo, son a mis directores de tesis el Dr. Moreno y el Dr. Colina. Al primero por haber desarrollado y realizado una técnica quirúrgica tan novedosa y al segundo por haberme brindado la oportunidad de trabajar desde el primer momento en que llegué como residente al Hospital 12 de Octubre en el campo del trasplante intestinal. Pero en todos estos años que llevo preparando este momento muchas han sido las personas que me han ayudado en todo el proceso. Por ello quiero darles también las gracias al equipo de patólogos integrado por los doctores Carolina Ibarrola, Guadalupe López y Miguel Ángel Martínez que día a día diagnostican y manejan estas biopsias, a las "chicas de inmunohistoquímica" Pilar, Rosa y Ángela por haber hecho las técnicas sin ponerme inconvenientes pese a la carga de trabajo que tienen y al Dr. Claudio Ballestín por ayudarme con su interpretación. A todos los técnicos del laboratorio central por haberme hecho nuevos cortes, nuevas tinciones y preparar todo el material que he utilizado en el estudio. Al Jefe de Servicio el Dr. Jose Luis Rodríguez Peralto, a los compañeros residentes, al resto de médicos asistentes, a los secretarios, a los celadores, a los auxiliares...en definitiva a todas las personas que integran la gran familia que es el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario 12 de Octubre, porque gracias a su trabajo y esfuerzo diario ha sido posible tener a disposición todo el material y toda la información necesarios. También debo mostrar mi más profundo agradecimiento al equipo de cirujanos y en especial al Dr. Jorge Calvo por haberme ayudado con la parte quirúrgica. A los compañeros del Hospital Nuestra Señora del Prado de Talavera de la Reina y a Roxana les agradezco todo el apoyo dado en estos primeros momentos de labor asistencial que me ha permitido compaginar el trabajo diario y la escritura del estudio. Fuera del hospital no olvido a mi extensa familia, a mis amigos (en especial a Carlota) y a mi novio por el apoyo que me han dado en todo este largo proceso.

Todos vosotros me habéis dado un voto de confianza, habéis estado a mi lado en los buenos momentos y más aún en los malos y no puedo defraudaros. Por este motivo espero que este trabajo así lo demuestre porque considero que es la mejor manera que tengo de decir a todos gracias, ¡muchas gracias de corazón!

ÍNDICE

SUMMARY	I
ÍNDICE DE TABLAS	X
ÍNDICE DE GRÁFICOS	XI
ÍNDICE DE FIGURAS	XII
LISTA DE ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS	XIV
I.INTRODUCCIÓN	1
Antecedentes históricos	2
Desarrollo embrionario, anatomía, histología y fisiología intestinal	7
Aspectos generales del trasplante intestinal	17
Fracaso intestinal	17
Manejo del fracaso intestinal	20
Indicaciones del trasplante intestinal	23
Contraindicaciones del trasplante intestinal	26
Selección del receptor	27
Selección del donante	29
Modalidades del trasplante intestinal	31
Extracción del injerto (cirugía in situ)	35
Cirugía de banco (cirugía ex situ)	39
Soluciones de preservación	40
Cambios de preservación	42
Técnica de implante	45
Inmunosupresión	46
Manejo post-operatorio	53

Complicaciones	55
Complicaciones quirúrgicas	55
Complicaciones infecciosas	57
Rechazo	62
Síndrome linfoproliferativo post-trasplante	72
Enfermedad injerto contra huésped	73
Datos de TI de los grupos más relevantes	75
II.OBJETIVOS E HIPÓTESIS DE TRABAJO	79
III.DISEÑO Y METODOLOGÍA	82
IV.PACIENTES, MATERIAL Y MÉTODOS	92
Pacientes	93
Material para el estudio histológico	99
Métodos	108
V.RESULTADOS	127
Diagnósticos biópsicos en los injertos	128
Histología y graduación de los cambios de preservación	129
Estudio histológico de posible rechazo humoral	131
Diagnósticos de rechazo agudo celular en biopsias del injerto	133
Distribución de diagnósticos histológicos en biopsias del injerto en infecciones	144
Diagnósticos de enfermedad linfoproliferativa post-trasplante del injerto	145
Miscelánea de diagnósticos en biopsias del injerto	148
Histopatología en biopsias no intestinales de los pacientes trasplantados	149
Resultados de los estudios histopatológicos en los injertos perdidos	151
Situación de los pacientes e injertos al final del estudio	154

VI. DISCUSIÓN	156
VII. CONCLUSIONES	171
BIBLIOGRAFÍA	173

UTILITY OF HISTOPATHOLOGY IN INTESTINAL TRANSPLANTATION IN ADULTS: Macroscopic, microscopic and immunohistochemical study of biopsies and resected specimens of intestinal grafts. Transplantation Programs HU 12 de Octubre.

Introduction:

Small bowel transplantation is a therapeutic option for patients with irreversible intestinal failure (1-4). The factors involved in the prognosis after transplantation include, in addition to the clinical status before transplantation, possible complications due primarily to rejection, infections, ischemia and post-transplant lymphoproliferative disorders (5-14). Histopathology plays a role in the control of the graft and in the diagnosis of these potential complications (15). An assessment of the contributions of histopathology to an intestinal transplantation program since its inception in 2004 to 2011 with the completion of 17 intestinal transplants in 15 adult recipients is made.

Aims:

The aims of this study were: I. - *In the post-transplant pathology*: a) To determine the usefulness of histopathology in the evaluation of the adequacy of the graft and to know the morphology at onset (time "0"): changes of preservation and value of initial C4d deposits. b) To identify and tabulate the variable histological changes of complications which constitute criteria for each diagnostic category and list the possible diagnoses (rejection, infection, post-transplant lymphoproliferative syndrome, ischemia, etc.) in order c) to establish the incidence in each period post-transplantation. d) To evaluate the most useful methodology for a conclusive diagnosis of each diagnostic category. II. - *On the causes of failure* (graft loss / death): a) To describe the morphological lesions in intestinal grafts failed. b) Assess the lesions identified as potential etiological factors of failure.

Patients, materials and methodology:

Between December 2004 and April 2011 (77 months) 17 intestinal transplants have been performed in 15 adult recipients (7 women and 8 men) aged between 30 and 66 years (mean: 43.4 ± 10.9). Thirteen were isolated intestinal transplants (IIT) and 4 multivisceral transplants (MVC). The mean follow-up of patients was 868.6 ± 670 days (range 1-2140). The indications for transplantation were: Short bowel syndrome (SBS) secondary to ischemic intestinal pathology (9 cases), Gardner syndrome with mesenteric fibromatosis (4 cases),

Crohn's disease (1 case), resection of the 2nd and 3rd intestinal graft because of refractory acute rejection (2 cases of re-transplantation in the same patient) and Budd-Chiari syndrome (1 patient) (Table 1). During the follow-up of patients a total of 951 histological specimens have been generated (average per patient: 63.3 ± 27.9), which have been distributed in 870 endoscopic graft biopsies (mean: 51.2 ± 27.5), 65 no- intestinal biopsies, 9 surgical resection specimens along with abdominal evisceration of the native organs during transplant surgery in the receptor, five explanted grafts obtained by resection and two autopsic studies. The number of ancillary studies at the follow-up for diagnostic purposes was a total of 103 of which 81 corresponded to immunohistochemistry (IHC), 19 in situ hybridization (ISH) and 3 ultrastructural studies (all these were from enteric biopsies).

We performed a descriptive study of the results obtained from the histological specimens and its variables. For the pathology reports from the biopsies, the following diagnostic categories were assigned: normal mucosa or nonspecific active inflammation, minimal nonspecific changes, ischemia, preservation / reperfusion injury, cytomegalovirus infection, opportunistic infection by other viruses, fungal infection, pseudomembranous enteritis, humoral rejection, acute rejection (AR) (grades 1, 2, 3), indeterminate for rejection (IAR), reparative mucosa, chronic rejection (CR), post-transplant lymphoproliferative syndrome (PLS), graft versus host disease, ulceration from unknown cause, sepsis, lesion attributed to technical complications and miscellaneous pattern.

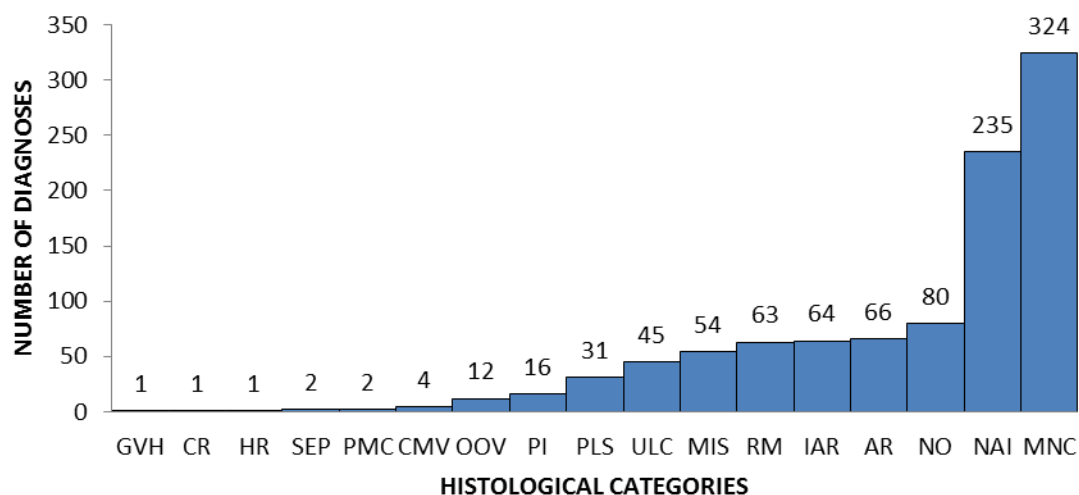
Results:

The most common diagnoses performed in graft biopses were 324 minimal changes (32,4%), followed by 235 nonspecific acute inflammation (23.5%), and by 80 no significant abnormalities in the mucosa (8%) (Graphic 1)

In regarding the usefulness of histopathology in the evaluation of the adequacy of the graft results were as follow: i) Villous atrophy, congestion and neutrophilic infiltration in the lamina propria were the main findings in the study of *preservation injury*. There was significant positive correlation between the observations made by two pathologists using the scale designed ($\rho = 0.941$, $p < 0.01$) and positive correlation between graft ischemic times and the degree of preservation injury ($\rho = 0.681$, $p < 0.05$). ii) There was not statistically significant correlation among *C4d deposits* and cold ischemia times, injury preservation

grades, test results for detecting donor-specific antibodies (crossmatch) and rejection development in the study of humoral rejection.

NUMBER OF DIAGNOSES PER HISTOLOGICAL CATEGORIES



Graphic 1. Number of diagnoses per histological categories: AR: acute rejection, CMV: cytomegalovirus, CR: chronic rejection, GVH: graft versus host disease, HR: humoral rejection, IAR: indeterminate for rejection, MIS: miscellaneous, MNC: minimal nonspecific changes, NAI: nonspecific active inflammation, NO: normal mucosa, OOV: other opportunistic viruses, PI: preservation injury, PLS: post-transplant lymphoproliferative syndrome, PMS: pseudomembranous enteritis, RM: reparative mucosa, SEP: sepsis, ULC: ulceration.

Twelve episodes of *acute cellular rejection* were diagnosed in grafts of 9 patients (53% of grafts) that were initiated between post-transplant day 7 and day 499 (median: 131.5). RA episode durations ranged from 3 to 87 days (median: 21.5). Three grafts had 2 episodes. One half of the six grade 3 acute cellular rejection patients lost their grafts while the other half resolved with additional immunosuppression although one of these patients died of sepsis. There were three grade 2 and three grade 1 acute cellular rejection episodes and they all responded to immunosuppressive treatment. AR episodes began as intense on 2 occasions, as moderate in 3 occasions, as mild in 4 occasions and as IAR in 3 occasions. AR fluctuated along the course of each episode. During 16 periods (on 9 grafts) the findings were indeterminate for acute rejection and lasted between 1-31 days (5 ± 8 days).

Seven *PLS* were diagnosed in 6 patients: 5 plasmacytic hyperplasia (PH) in graft mucosa (post-transplant days 77, 156, 203, 511, 1036) and 2 monomorphic B- *PLS* in graft mucosa (days 148 and 157). No systemic *PLS* was observed. EBER in situ hybridization was positive in 5 patients. The proliferating lymphoid cells were B in every case, being polytypic in PH and monotypic (immunoglobulin-restricted for kappa or lambda light-chains) in monomorphic *PLS*. On follow-up, 3 PH resolved, while 2 PH were observed on explant surgical specimens. One monomorphic *PLS* responded to chemotherapy while was lethal. Prior AR and additional immunosuppression existed in 2 cases (one monomorphic *PLS* and one PH).

In regarding *viral opportunistic infections*, cytomegalovirus (CMV) appeared as inclusion in 4 biopsies (26%) on post-transplant days 57, 77, 159 and 310. Immunohistochemistry showed positivity in 2 samples. Serology receiver / donor (R / D) was R + / D- in one and R-/ D + in the other. The maximum duration of infection was 19 days in one patient. Adenovirus appeared in two patients, one of them featuring two episodes. Suspicious inclusions were observed post-transplant day 51, 80 and 154. The duration of episodes was between 7 and 25 days. In one case it could confirm the presence of the virus by ultrastructural study. In two cases of CMV and one of adenovirus, previous diagnosis of AR was made with subsequent additional immunosuppression.

In regarding *clinical evolution* of the 15 patients in this series, intestinal transit was restored in five IIT cases (33%), with a mean of 585 days post-transplant (315-796). Four patients (27%) remained with ileostomy by the end of the study period, but free from parenteral nutrition. Eight grafts (47%) were lost out of 7 patients (46.6%), 3 of them were MVC cases and the rest were IIA (Table 1). Five explants out of four patients were studied by histopathology, two of them were the 2nd and 3rd transplant from one patient (1st graft was lost due to AR in another Center). Three were diagnosed as grade 3 AR corresponding to post-transplant days 77, 157 and 503 and the other 3 were diagnosed as *PLS* on days 77, 144 and 503. Two explant specimens were simultaneously diagnosed of AR and *PLS*. Postmortem examination was authorized in two MVC transplanted patients. The cause of death was established as multiple organ failure secondary to sepsis in both of them.

Table 1. Main intestinal transplant patients features (December 2004-April 2011).

Patient/ Gender	Age*	Indication	Graft type	Follow- up (in days)	N°graft/ patient	Patient's state at the end of the study
1 / F	30	Refractory Rejection	IIT	394	2	Explanted Death
2 / F	45	Gardner syndrome	IIT	378	1	Explanted Death
3 / M	45	Ischemia	IIT	2104	1	Ileostomy
4 / M	36	Gardner syndrome	IIT	2040	1	Reconstruction
5 / F	32	Gardner syndrome	MVC	1689	1	Ileostomy
6 / M	42	Crohn's disease	IIT	1699	1	Ileostomy
7 / M	34	Gardner syndrome	IIT	649	1	Explanted Death
8 / M	56	Traumatic	IIT	859	1	Reconstruction
9 / M	36	Ischemia	MVC	31	1	Death Autopsy
10 / M	31	Traumatism	IIT	870	1	Reconstruction
11 / F	47	GIST	IIT	861	1	Reconstruction
12 / F	62	Ischemia	MVC	82	1	Death

						Autopsy
13 / M	66	Ischemia	IIT	688	1	Reconstruction
14 / F	52	Ischemia	IIT	489	2	Ileostomy
15 / F	38	Ischemia	MVC	187	1	Death

* At transplantation. F: Female, IIT: Isolated intestinal transplant, M: Male, MVC: Multivisceral transplant.

Discussion:

Intense congestion-hemorrhage, and epithelial detachment associated with villous atrophy expressed the maximum degree of *intestinal graft preservation injury*, and also microthrombi in capillaries and erosions occasionally were seen. Positive correlation was observed between cold ischemia time and degree of preservation injury. The grading system that was designed reached good reproducibility between different observers and can be useful tool for the graduation of ischemia-reperfusion injury as well as other systems used (12). In this study there was not statistically significant relationship between C4d deposits and later development of humoral or acute rejection, that they were not seen in the follow-up biopsies. Also there was no significant relationship among positive C4d deposits, cold ischemia times, cross matching results or preservation injury grades. These results were similar to the reported by other groups (16-17).

Acute rejection episodes were observed in 53% of the grafts and were the most frequent post-transplant condition in the Program. These episodes have been of variable duration and fluctuating severity. 75% (9 from 12) of the acute cellular rejection episodes regressed with additional immunosuppression, including one highest grade. During follow-up there have been single or repeated biopsies with indefinite findings (IAR), possibly immune self-limited attacks without progression to overt acute rejection. These results agree with those published by other larger series (13-15) and because of them it has been concluded that close biopsy follow-up of the grafts is necessary as has been done in our Program.

Seven *PLS* were observed in 6 patients (40% of the patients). In 2 (29% of the episodes) it was associated with early both RA and previous additional immunosuppression. Four (57%) regressed with the use of chemotherapy or by decreasing/reducing immunosuppression. EBV-

seropositivity was confirmed by ISH in 5 cases. B-cell immunophenotype was defined by IHC in every case, including monomorphic PLS. There was a high rate of PLS despite the use of pre-transplant antiviral prophylaxis, and despite viral load monitored by PCR. The association with AR and subsequent use of OKT3, suggest that additional immunosuppression could be the main a risk factor for the development of PLS, and could explain these results (11).

Opportunistic infections were seen. CMV active infection was observed in 4 biopsies from 4 patients (26%), histology (nuclear inclusions) being the most effective diagnostic method, because IHC was just positive in 2 cases. 50% of these infections were preceded by AR and additional immunosuppression. All these opportunistic infections were observed in the first 6 post-transplant months. Adenovirus infection was seen in 2 patients (13%).

As seen before, planned and systematic histopathologic studies are necessary to provide adequate confidence diagnoses and will satisfy given requirements in the follow-up of an Intestinal Transplantation Program.

Eight out of seventeen grafts were lost (47%). Causes have been of two types: a) Local (or intestinal): severe AR and lymphoproliferative disorder were the most common cause of intestinal failure (17.6% either one) b) Systemic: sepsis which were seen in 2 cases (25%). Immune attacks, infections, and malignancies are thus the major associated complications with prolonged immunosuppressive treatments, used in maintenance of grafts as in other Programs (15). Histopathological studies have adequately identified and documented causes of intestinal graft loss and have also contributed to *quality control* in the Program.

Complete digestive autonomy was achieved in 33% of the patients. *Probability of survival* of both patients and grafts decreased to 60% during the first 15 months, unchanged from that time for third year. Our series is small compared to those presented by other groups (13-14), and by the International Registry Intestine Transplant (6) but our survival results are similar, and even better.

Conclusions:

Conclusions we have reached in this study are:

1. Intestinal transplantation is a viable treatment for patients with short bowel syndrome with a survival rate of 66.7% per year and 59.3% at 3 years.

2. The herein designed grading system for preservation changes of the graft mucosa can be assessed objectively by different observers and grade intensity is significantly correlated with cold ischemia time of the graft.
3. AR, PLS and infections are the most common complications of intestinal transplantation and they prompt a precise histopathological diagnosis for adequate patient management.
4. The causes of graft failure can be: 1) local or bowel-related (rejection and PLS) that pose a graft loss rate of 17,6 % and 2) systemic infectious-related, causing septic states with a rate of 11,7%.
5. Histopathology is necessarily involved in the assessment of the suitability of the graft for transplantation, graft outcome, in the monitoring of immunosuppressive treatment, and in the evaluation of quality of the program.
6. Every observation reflected in this study was simultaneous with the health care assistance process and have formed the basis for the management of grafts and patients. With this work we have developed a methodology and training for pathologists that needs further, more specific studies.

References:

1. Abu-Elmagd KM. Intestinal transplantation for short bowel syndrome and gastrointestinal failure: current consensus, rewarding outcomes, and practical guidelines. *Gastroenterology* 2006; 130: 132-137.
2. O'Keefe SJ, Buchman AL, Fishbein TM, et al. Short bowel syndrome and intestinal failure: Consensus definitions and overview. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2006; 4: 6-10.
3. Fishbein TM. Intestinal transplantation. *N Engl J Med.* 2009; 361: 998–1008.
4. American Gastroenterological Association. Short bowel syndrome and intestinal transplantation: medical position statement. *Gastroenterology* 2003; 124: 1105-1110.
5. Grant D. Current results of intestinal transplantation. The International Intestinal Transplant Registry. *Lancet* 1996; 347: 1801-1803.
6. Grant D, Abu-Elmagd K, Reyes J, et al. 2003 report of the intestine transplant registry: a new era has dawned. *Ann Surg.* 2005; 241: 607-613.

7. Lee RG, Nakamura K, Tsamandas AC, et al. Pathology of human intestinal transplantation. *Gastroenterology* 1996 ;110: 1820
8. Lee RG, Tsamandas AC, Abu-Elmagd K, et al. Histologic spectrum of acute cellular rejection in human intestinal allografts. *Transplant Proc.* 1996; 28: 2767.
9. Ruiz P, Takahashi H, Delacruz V, et al. International grading scheme for acute cellular rejection in small-bowel transplantation: single-center experience. *Transplant Proc.* 2010; 42: 47–53.
10. Ruiz P, Wepler D, Nishida S, et al. International grading scheme for acute rejection in small bowel transplantation: implementation and experience at the University of Miami. *Transplant Proc.* 2006; 38: 1683–1684.
11. Abu-Elmagd KM, Mazariegos G, Costa G, Soltys K, et al. Lymphoproliferative disorders and de novo malignancies in intestinal and multivisceral recipients: improved outcomes with new outlooks. *Transplantation.* 2009; 88: 926-934.
12. Quaedackers JS, Beuk RJ, Bennet L, et al. An evaluation of methods for grading histologic injury following ischemia/reperfusion of the small bowel. *Transplant Proc.* 2000; 32: 1307-1310.
13. Abu-Elmagd KM, Costa G, Bond GJ, Soltys K, et al. Five hundred intestinal and multivisceral transplantations at a single center: major advances with new challenges. *Ann Surg.* 2009; 250: 567-581.
14. Cai J. Intestine and multivisceral transplantation in the United States: a report of 20-year national registry data (1990-2009). *Clin Transpl.* 2009: 83-101
15. Remotti H, Subramanian S, Martinez M, et al. Small-bowel allograft Biopsies in the management of small-intestinal and multivisceral transplant recipients. Histopathologic review and clinical correlations. *Arch Pathol Lab Med* 2012, 136: 761-777.
16. Troxell ML, Higgins JP, Kambham N. Evaluation of C4d staining in liver and small intestine allografts. *Arch Pathol Lab Med.* 2006; 130: 1489–1496.
17. de Serre NP, Canioni D, Lacaille F, et al. Evaluation of c4d deposition and circulating antibody in small bowel transplantation. *Am J Transplant.* 2008; 8: 1290–1296

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Indicaciones del TI	26
Tabla 2. Contraindicaciones del TI	27
Tabla 3. Evaluación del receptor	29
Tabla 4. Criterios de selección de donantes para TI	31
Tabla 5. Descripción del sistema de graduación de la lesión por isquemia-reperfusión de Chui/Park	44
Tabla 6. Tratamiento del SLPT	73
Tabla 7. Tipos de biopsias de injerto intestinal y sus indicaciones	100
Tabla 8. Anticuerpos empleados en la investigación	106
Tabla 9. Recuento de cambios encontrados en 13 biopsias endoscópicas tomadas antes de 24 horas post-trasplante	113
Tabla 10. Grado de lesión por preservación dado por cada patólogo, grado final y tiempo de isquemia fría de cada biopsia	114
Tabla 11. Depósitos de C4d, tiempo de isquemia fría, crossmatch y grado de preservación de las "biopsias tiempo cero" los 13 injertos estudiados	115
Tabla 12. Estudio de las características de la mucosa reparativa	121
Tabla 13. Esquema para el diagnóstico de SLPT	122
Tabla 14. Resumen de los episodios de RA	135
Tabla 15. Evaluación y distribución de la población linfocitaria en mucosa intestinal con/sin RA	142
Tabla 16. Mucosa reparativa en TI	143
Tabla 17. Resumen de los injertos perdidos	153

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Indicaciones de TI en adultos	24
Gráfico 2. Indicaciones del TI pediátrico	25
Gráfico 3. Principales indicaciones de TI de los pacientes trasplantados entre 2004-2011	93
Gráfico 4. Serología de CMV	94
Gráfico 5. Distribución de la procedencia anatómica de los especímenes histológicos estudiados	95
Gráfico 6. Distribución de las biopsias de injerto y las que no eran de injerto por paciente	98
Gráfico 7. Relación entre las biopsias de injerto de cada paciente y el tiempo de seguimiento	98
Gráfico 8. Distribución de los diagnósticos por categoría histológica	129
Gráfico 9. Distribución y porcentaje de los cambios de preservación observados	130
Gráfico 10. Proporción de los distintos grados de los cambios de preservación	131
Gráfico 11. Distribución y porcentaje de los depósitos de C4d	132
Gráfico 12. Distribución de los episodios de RA según el grado	133
Gráfico 13. Evolución de los pacientes 1 y 2 con episodios de RA-1	136
Gráfico 14. Evolución del paciente 3 con un episodio de RA-2	137
Gráfico 15. Evolución del paciente 4 con un episodio de RA-2	138
Gráfico 16. Evolución de los pacientes 5 y 6 con RA-3	139
Gráfico 17. Evolución del paciente 7 con RA-3	139
Gráfico 18. Evolución del paciente 8 con RA-3	140
Gráfico 19. Episodio del paciente 9 con RA-3	141
Gráfica 20. Evolución de los 15 pacientes de la serie	154
Gráfico 21. Probabilidad de supervivencia de los pacientes	155
Gráfico 22. Probabilidad de supervivencia de los injertos	155

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. “El milagro de San Cosme y San Damián”	2
Figura 2. Estructura del tubo digestivo	12
Figura 3. Histología del epitelio intestinal	14
Figura 4. Trasplante de intestino aislado	32
Figura 5. Trasplante hepato-intestinal	33
Figura 6. Trasplante multivisceral	34
Figura 7. Esquema de la técnica de extracción multiorgánica clásica	36
Figura 8. Técnica de evisceración abdominal total	38
Figura 9. Hallazgos histológicos en los que se basa el diagnóstico de RA	67
Figura 10. Imágenes endoscópicas de la mucosa intestinal en distintos grados de rechazo	68
Figura 11. Hallazgos histológicos en los distintos grados de rechazo	70
Figura 12. Pieza de exenteración abdominal para la realización de un TMV	96
Figura 13. Pieza de resección intestinal con tumor desmoide mesentérico	96
Figura 14. Pieza de resección intestinal con EII tipo Enfermedad de Crohn	97
Figura 15. Pieza de exenteración abdominal con hepatopatía fibrosa	97
Figura 16. Distintos grados de lesión de criptas	116
Figura 17. Cuerpos apoptóticos en el epitelio criptico	117
Figura 18. Múltiples imágenes de cariorrexis en los núcleos	117
Figura 19. Ejemplo de mucosa de injerto intestinal con IRA	118
Figura 20. Ejemplo de RA-leve	118
Figura 21. Ejemplo de RA-moderado	119
Figura 22. Ejemplo de RA-intenso	119
Figura 23. Ejemplo de mucosa regenerativa	120

Figura 24. Cambios de preservación	130
Figura 25. Tipos de tinción de C4d	132
Figura 26. Pieza de explante con RA-3	135
Figura 27. Presencia de inclusiones víricas mesenquimales y epiteliales compatibles con CMV	144
Figura 28. Inclusiones nucleares víricas compatibles con adenovirus	145
Figura 29. Partículas víricas intranucleares de adenovirus	145
Figura 30. Histología HP	146
Figura 31. Histología del SLPT monomorfo	146
Figura 32. Estudio IHQ de un SLPT	147
Figura 33. Pieza de explante con SLPT monomorfo	148
Figura 34. Presencia de partículas irregulares moradas oscuras de kaixalato	149
Figura 35. Calcificación en lámina propia de un a vellosidad	149
Figura 36. Biopsia cutánea diagnosticada de EICH en un paciente con TMV	150
Figura 37. Hallazgos compatibles con RC	151
Figura 38. Estudio necrópsico	152
Figura 39. Pseudoaneurisma micótico	153

LISTA DE ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

AA: Arteria aorta	GALT: Tejido linfoide asociado a intestino
AAIR: Aorta abdominal infrarrenal	GIST: Tumor del estroma gastro-intestinal
Ac: Anticuerpo-os	H: Hidrógeno
ADN: Ácido desoxirribonucleico	HAN-CIF group: Grupo europeo de nutrición artificial domiciliaria y fallo intestinal crónico
AINE: Anti-inflamatorios no esteroideos	HCFA: Health Care Financing Administration
AMI: Arteria mesentérica inferior	HE: Hematoxilina- eosina
AMS: Arteria mesentérica superior	HIS: Hibridación in situ
APC: Célula presentadora de antígenos	HLA: Human Leukocyte Antigens
ARN: Ácido ribonucleico	HTA: Hipertensión arterial
ATG-E: Gammaglobulina anti-timocítica equina	HTLV: Human T-lymphotropic virus
ATG-R: Gammaglobulina anti-timocítica de conejo	HTP: Hipertensión portal
ATP: Adenosintrifosfato	IAI: Inflamación aguda inespecífica
Ca: Calcio	ICN: Inhibidores de la calcineurina o anticalcineurínicos
CMI: Cambios mínimos inespecíficos	Ig: Inmunoglobulina
CMV: Citomegalovirus	IHQ: Inmunohistoquímica
CO2: Dióxido de carbono	IL-2: Interleuquina-2
CSA: Ciclosporina A	IMC: Índice de masa corporal
DAP: Diagnóstico Anatomopatológico	IOT: Intubación oro-traqueal
DVA: Drogas vaso activas	IR: Insuficiencia renal
EBV: Virus Epstein Barr	IRA: Indeterminado para rechazo
EE.UU.: Estados Unidos de América	ITR: Registro de Trasplante Intestinal
EHANTP: Enfermedad hepática asociada a NTP	IV: Vía Intravenosa
EICH: Enfermedad de injerto contra huesped	K: Potasio
ESPEN: Sociedad Europea de Nutrición Parenteral y Enteral	LP: Lesión de preservación
FI: Fallo o fracaso intestinal	MALT: Tejido linfoide asociado a mucosa
FMO: Fracaso o fallo multiorgánico	ME: Microscopio electrónico
Fig.: Figura	MMF: Micofenolato Mofetil
FR: Función renal	

mg: miligramo	RAV: rechazo agudo vascular
Mg: Magnesio	RC: Rechazo crónico
MHC: complejo mayor de histocompatibilidad	RH: Rechazo humoral
MIS: Miscelánea	SENPE: Sociedad española de nutrición parenteral y enteral
MO: Médula ósea	SIC: Síndrome de intestino corto
6-MP: 6-Mercaptopurina	SLPT: Síndrome linfoproliferativo postrasplante
MR: Mucosa reparativa	SNC: Sistema nervioso central
Na: Sodio	THI: Trasplante hepato-intestinal
NADYA: Grupo de nutrición artificial domiciliaria y ambulatoria	TI: Trasplante intestinal
NE: Nutrición enteral	TIA: Trasplante intestinal aislado
NO: Normal	TMV: Trasplante multivisceral
NP: Nutrición parenteral	TOS: Trasplante de órganos sólidos
NPD: Nutrición parenteral domiciliaria	UCI-UVI: Unidad de cuidados o vigilancia intensiva
NPT: Nutrición parenteral total	ULC: Ulceración
OMS: Organización Mundial de la salud	UW: Universidad de Wisconsin
ONT: Organización Nacional de Trasplante	VC: Vena cava
O2: Oxígeno	VCI: Vena cava inferior
OKT3: Muromonab-CD3	VDLR: Venereal Disease Research Laboratory
OVO: Otros virus oportunistas	VEB: Virus de Epstein-Barr
PAF: Poliposis adenomatosa familiar	VHB: Virus hepatitis B
PCR: Parada cardio-respiratoria	VHC: Virus hepatitis C
PCR: reacción en cadena de la polimerasa	VMI: Vena mesentérica inferior
PSM: Patología pseudomembranosa	VMS: Vena mesentérica superior
PVC: Presión venosa central	VO: Vía oral
R: Receptor	VP: Vena porta
RA: Rechazo agudo	VSH: Venas suprahepática
RAC: Rechazo agudo celular	

I. INTRODUCCIÓN

ANTECEDENTES HISTÓRICOS:

Remplazar y sustituir partes del cuerpo dañadas por otras sanas ha constituido un sueño desde tiempos remotos para el hombre y un hito de la medicina moderna. El trasplante o injerto común es un tratamiento médico complejo. Permite que órganos, tejidos o células de una persona puedan remplazar órganos, tejidos o células enfermos de otra persona. En algunos casos esta acción sirve para salvar la vida, en otros para mejorar la calidad de vida o también ambas cosas.

En el siglo XV aparece representada una de las primeras ideas de trasplante con donante cadavérico con fines terapéuticos cuya imagen quedó plasmada en el óleo “Milagro de San Cosme y San Damián” (Figura 1). A estos hermanos médicos que vivieron en el siglo III se les atribuye el remplazo de la pierna del Diácono Justiniano con gangrena por la de un hombre etíope que acaba de fallecer (1). Con el transcurrir de los años la ciencia médica comienza a recorrer el camino que haría posible, años más tarde, concretar esta fantasía humana.



Figura 1. “El milagro de San Cosme y San Damián” atribuido a Fernando del Rincón. Museo del Prado. Madrid

Hace casi cien años, cuando Alexis Carrel describe las suturas vasculares, se abre la posibilidad técnica y quirúrgica de realizar un trasplante de órganos (2). El primer trasplante registrado con éxito de nuestra época fue de córnea, en 1905, llevado a cabo por Eduard Zirm.

(3). El primero de riñón fue en el Peter Bent Brigham Hospital en 1951. La historia del trasplante hepático va ligada a la de un cirujano norteamericano nacido en Iowa: Thomas Starzl. Preparó una técnica experimental de trasplantes en animales y el 1 de Marzo de 1963 llevó a cabo el primer trasplante de hígado en el Veteran's Hospital de Denver, Colorado, a un niño de 3 años. Cuatro años después Christiaan Neethling Barnard, miraba con incredulidad en el quirófano del Hospital Groote Schurr de Ciudad de El Cabo, cómo latía el corazón que acaba de implantar exclamando en afrikaans: "¡Jesús, esto va a funcionar!" (4).

Pese a estas victorias iniciales, estos éxitos marcan también el inicio de un largo y difícil proceso. Prácticamente de inmediato se detecta un problema, que será motivo de investigación durante décadas, que es el rechazo del órgano trasplantado por parte del organismo receptor, al reconocerle este como un elemento extraño. Gracias al trabajo de Sir Meter B. Medewar ahora sabemos que el fallo se debe a mecanismos inmunológicos (5).

Recién a mediados de siglo XX el saber y la tecnología médica estarán en condiciones de poder controlar el proceso inmunológico del rechazo y de derribar esta segunda gran barrera para la realización del trasplante. Los médicos comienzan a investigar, mediante el desarrollo de estudios muy complejos y costosos, el grado de identidad entre el donante y el receptor: la "histocompatibilidad" (6-7). Esto conduce al desarrollo de fármacos que permiten evitar el rechazo del órgano o el tejido implantado. Billingham et al. es de los primeros en a usar los corticoides, no obteniendo los resultados esperados. Posteriormente se introduce el uso de antimetabolitos como la 6-mercaptopurina y sus derivados (azatioprina). En 1983 la introducción de la ciclosporina A revolucionó el campo del trasplante de órganos al brindar un tratamiento eficaz y seguro que permite aumentar la supervivencia del órgano trasplantado y mejorar la salud y calidad de vida de los pacientes. Desde entonces el campo de los fármacos inmunosupresores ha tenido un desarrollo paralelo al del trasplante (8).

Entre los tejidos y órganos que se pueden trasplantar en el momento actual se encuentran la córnea, el hueso, las válvulas cardíacas, la piel, el pelo, las uñas, el corazón, el hígado, el riñón, el pulmón, el páncreas, el intestino, la médula ósea, la sangre, la cara, las extremidades y el útero.

En España el primer trasplante de órganos con éxito entre humanos se realizó en 1965, en Barcelona. Fue un trasplante renal obtenido de un cadáver. Durante los años sesenta y setenta

hubo una falta de regularización de estos procedimientos hasta la promulgación de la Ley 30/1979 y el Real Decreto 426/1980 que desarrollaba la Ley de trasplantes.

Dicha ley contempla como puntos fundamentales:

- 1.-El establecimiento de la llamada muerte encefálica y por parada cardiorrespiratoria como equivalente científico legal y ético de la muerte 'clásica' del individuo.
- 2.-El respeto a la voluntad del fallecido en cuanto a donar o no sus órganos.
- 3.-La necesidad de que el diagnóstico de muerte se haga por un equipo de médicos independiente del de trasplante.
- 4.-El carácter altruista de la donación y la no comercialización de los órganos.
- 5.-La garantía de anonimato del donante.
- 6.-La aplicación de criterios médicos para la distribución de los órganos disponibles entre los enfermos en espera de los mismos.

La Organización Nacional de Trasplantes (ONT) es el organismo coordinador de carácter técnico, perteneciente al Ministerio de Sanidad y Política Social y encargado de desarrollar las funciones relacionadas con la obtención y utilización clínica de órganos, tejidos y células. Su estructura se basa en una organización reticular a tres niveles: Coordinación Nacional, Coordinación Autonómica y Coordinación Hospitalaria. Tras la creación de la ONT, España ha pasado de 14 donantes por millón de población (pmp) a 34,6 donantes pmp. De estar en la parte media-baja de los índices de donación en Europa, ha pasado a tener con diferencia el índice más elevado, no ya de Europa, sino del mundo. La causa radica en el internacionalmente denominado MODELO ESPAÑOL (*Spanish Model*), un conjunto de medidas adoptadas en nuestro país para mejorar la donación de órganos. Dicho modelo, ampliamente descrito en la literatura científica, ha sido recomendado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y se está aplicando en diferentes partes del mundo con resultados muy similares a los obtenidos en nuestro país. El éxito de este modelo sólo es comprensible desde un enfoque multidisciplinar, que engloba aspectos legales, económicos, políticos y médicos. Uno de sus récords de actividad fue el 5 de diciembre del 2011: 94 trasplantes, procedentes de 39 donantes y 42 hospitales involucrados, en 72 horas (9).

El trasplante intestinal es una opción terapéutica para pacientes con fallo intestinal irreversible, siendo el último de los trasplantes de órganos abdominales en haberse desarrollado (10). Los primeros trabajos experimentales se remontan a principios del siglo pasado con las experiencias comentadas de Alexis Carrel en anastomosis vasculares (2). En 1959 Richard Lillehei desarrolla el primer modelo canino de auto-trasplante de intestino delgado, seguido al poco tiempo por Thomas Starzl que realiza el primer trasplante multivisceral. Ambas experiencias pusieron de manifiesto la factibilidad técnica del procedimiento, si bien la supervivencia estaba comprometida ante la falta de una inmunosupresión adecuada.

El primer trasplante intestinal en humanos lo realizó Ralph Deterling en Boston en 1964 (caso no publicado), seguido de nuevo por Lillehei en 1967. A este último se le concede la paternidad de dicho trasplante. El rigor metodológico de sus trabajos experimentales y sus observaciones clínicas constituyeron modelos fundamentales a seguir (11). Pese a la viabilidad técnica, las complicaciones post-trasplante aparecidas y relacionadas fundamentalmente con la sepsis y el rechazo impedían su adecuado desarrollo. Y no fue hasta la década de los 90 con la aparición del tacrolimus como fármaco inmunosupresor fundamental cuando la carrera del trasplante intestinal despega definitivamente (12). En ese momento pasa de ser una técnica experimental a una práctica clínica estándar y una opción terapéutica válida para pacientes con insuficiencia intestinal e imposibilidad de continuar con el soporte parenteral.

En octubre de 2000 fue aprobada su financiación por el Health Care Financial Administration en Estados Unidos, solamente en centros con una experiencia mayor a diez trasplantes intestinales y una supervivencia mínima del paciente del 65% al año. Cuatro centros recibieron esta aprobación, liderados por el grupo de Pittsburg, que en el año 2001 publicó sus resultados de 165 trasplantes realizados en 155 pacientes (13). A fecha de febrero de 2012, existían ya 17 programas de trasplante intestinal y multivisceral aprobados por el Medicare.

En 1985 se constituyó el Registro Internacional de Trasplante de Intestino, estimándose en el XI Simposio Internacional de Trasplante Intestinal celebrado en 2011 un total de 2569 trasplantes a nivel mundial (14). Actualmente se practica en más de 60 centros repartidos en 20 países, habiendo tres modalidades: trasplante intestinal aislado (yeyuno-ileal),

multivisceral (hígado, estómago, duodeno, páncreas e intestino) y trasplante combinado hepato-intestinal.

En el ámbito nacional, el primer trasplante de intestino se realizó en el Hospital Universitario La Paz en un receptor pediátrico el 21 de octubre de 1999 (15). Posteriormente, el 17 de julio de 2002 tuvo lugar el primero en receptor adulto en el Hospital Ramón y Cajal. Actualmente en España sólo el Hospital Universitario La Paz, el Hospital Vall d'Hebrón y el Hospital Universitario 12 de Octubre están acreditados para tal procedimiento. En el Hospital Universitario 12 de Octubre se aprobó en julio de 2004 el protocolo multidisciplinar y definitivo de trasplante intestinal en receptores adultos, teniendo lugar el primero el 28 de diciembre de 2004. Desde entonces y hasta abril de 2011 se han realizado un total de diecisiete trasplantes (trece de intestino aislado y cuatro multiviscerales) en quince receptores diferentes, siendo la mayor experiencia acumulada en el país en receptores adultos (16) y la que se analizará en el presente estudio.

JUSTIFICACIÓN:

El trasplante intestinal exige de una aportación relevante de la Anatomía Patológica en el proceso diagnóstico y terapéutico al igual que ocurre en otros tipos de homotrasplante. Los factores que intervienen en el pronóstico post-trasplante incluyen el estado clínico previo y las posibles complicaciones debidas sobre todo al rechazo, las infecciones, la isquemia y los síndromes linfoproliferativos post-transplante. Requiere de una estrecha monitorización a través de la biopsia y de una mayor urgencia en la emisión de un diagnóstico histopatológico fiable para determinar la pauta de tratamiento. Es necesario por tanto desarrollar pautas en la actuación asistencial y en la interpretación histopatológica e inmunohistoquímica para facilitar la toma de decisiones clínicas. Dado que la experiencia mundial es escasa y limitada a pocos países, es necesario estandarizar, validar y comparar nuestros resultados. Puede esperarse con ello conocer y mejorar el nivel de calidad en el manejo clinicopatológico de este trasplante, así como categorizar nuevas entidades patológicas, realizar una mayor delimitación y definición de los criterios histológicos diagnósticos más precoces y fiables y que benefician al paciente. Adicionalmente es necesario formar a los propios patólogos y ofrecer experiencia a los futuros profesionales implicados en esta actividad.

Finalmente es la propia sociedad la que demanda la aplicación de los conocimientos generados por la investigación básica a la práctica clínica, y que el conocimiento y las tecnologías de la investigación y de la innovación se traduzcan en terapias eficaces.

DESARROLLO EMBRIONARIO, ANATOMÍA, HISTOLOGÍA Y FISIOLOGÍA INTESTINAL:

Embriología:

El desarrollo humano se inicia con la fecundación, siendo el resultado final de esta el cigoto, la célula que origina al hombre. En las primeras etapas del desarrollo y durante la fase de implantación, el cigoto muestra varias divisiones mitóticas, subdividiéndose en células de menor tamaño (blastómeros). Tres días después de la fecundación penetra en el útero en forma de mórula, constituido por 12 blastómeros. En la mórula pronto se forma una cavidad que la convierte en un blastocito. El blastocito muestra por tanto una masa de células internas que origina el embrión (embrioblasto), una cavidad blastocítica y una capa externa de células (trofoblasto) que engloba a las dos anteriores y que interviene en la implantación del embrión en la cavidad endometrial. Durante la segunda semana de desarrollo el embrioblasto se diferencia hacia un disco bilaminar, presentando un epiblasto (relacionado con la cavidad amniótica) y el hipoblasto, en el cual aparece un engrosamiento (placa procordal) que indica la región craneal. A lo largo de la tercera semana y durante el proceso de gastrulación, el disco embrionario bilaminar se convierte en trilaminar, originando las tres capas germinales: el ectodermo, el mesodermo intraembrionario y el endodermo. Y desarrollándose el inicio del sistema nervioso y el cardiovascular. Durante la cuarta y octava semana tiene lugar el periodo organogénico, estableciéndose todas las estructuras externas e internas mayores a partir de las tres capas embrionarias. En esta fase del desarrollo se producen fenómenos de crecimiento, morfogénesis y diferenciación siendo el resultado final la formación de tejidos y órganos capaces de llevar a cabo funciones especializadas. Uno de los primeros cambios es el paso del disco embrionario plano trilaminar a una estructura cilíndrica, a través del proceso de plegamiento. Con este fenómeno el saco vitelino recubierto por endodermo se incorpora al embrión, originando el intestino primitivo. Este tubo digestivo inicial se encuentra cerrado en su extremo craneal por la membrana bucofaríngea y en su extremo caudal por la membrana cloacal. Del endodermo se originará la mayor parte del epitelio y las glándulas del aparato digestivo, salvo el epitelio de los extremos proximal y caudal que derivan del ectodermo. Del

mesénquima esplácnico que rodea al endodermo derivará el tejido muscular, conjuntivo y otras capas de la pared del tubo digestivo.

Con fines descriptivos el intestino primitivo se divide en tres partes:

- Intestino anterior: de él derivan la faringe, aparato respiratorio, esófago, estómago, duodeno, hígado, aparato biliar y páncreas.
- Intestino medio: de él derivan intestino delgado, ciego, apéndice vermiforme, colon ascendente y mitad derecha de colon transverso.
- Intestino caudal: de él derivan mitad izquierda de colon transverso, colon descendente, sigma, recto, parte superior del conducto anal, epitelio vesical y uretra.

Todo el proceso de diferenciación conlleva la expresión de determinados genes y la interacción entre las distintas capas germinales a través de distintos factores de crecimiento. También se producirán fenómenos de crecimiento, rotación y plegamiento quedando retenido todo el aparato gastrointestinal dentro de la cavidad abdominal.

Pese a que el tracto digestivo es anatómicamente distinguible desde los primeros momentos de la etapa embrionaria, la aparición de células funcionales absorptivas no tendrá lugar hasta etapas tardías de la gestación (17-19).

La diferenciación del epitelio intestinal se produce a partir del endodermo, siguiendo este proceso un sentido descendente de proximal a caudal. En las primeras etapas aparecen túbulos simples revestidos por células endodérmicas indiferenciadas que muestran pequeños microvilli. En la novena semana de gestación se produce la infiltración del eje de la vellosidad por tejido mesenquimal y el epitelio pasa de ser estratificado a columnar, localizándose entre las vellosidades el área de células progenitoras que dará lugar a las criptas.

Las diversas funciones del intestino requieren la presencia distintos tipos de células organizadas en determinadas localizaciones. La diferenciación del enterocito va a depender tanto de los gradientes de diferenciación génica promovidos por diversos factores de transcripción como de su localización en relación con los ejes verticales y horizontales de la vellosidad. Los genes Homeobox son los que participan en la instauración de estos gradientes durante el desarrollo y manteniéndose en los tejidos adultos. El epitelio finaliza su diferenciación en enterocitos, células caliciformes, células endocrinas y células de Paneth

cuatro o cinco días antes del nacimiento. Todo este proceso de diferenciación parece estar relacionado con la expresión de los genes *Math1* y *Cdx2* (20-21). Las estructuras linfoides intestinales aparecen a mitad de gestación. En la 11ª semana la población linfocitaria T ocupa la lámina propia y el epitelio, aumentando en número posteriormente. En la 16ª semana aparecen las placas de Peyer iniciales con agregados T y B, estando organizadas por completo en la 19ª semana. En el momento del nacimiento, las placas de Peyer tienen la mayor densidad celular que cualquier otro tejido linfocitario en el cuerpo, aumentando el número de estas tras el nacimiento y bajo el estímulo del sistema inmune por antígenos medioambientales que contactan con el cuerpo a través del tracto digestivo.

Anatomía:

El intestino delgado humano mide alrededor de 7 metros de longitud, extendiéndose desde el píloro gástrico hasta la válvula ileocecal y dividiéndose en tres segmentos. El primero de ellos es el duodeno, de 20-25 cm de longitud. La primera parte de este, de 5 cm de longitud, se encuentra dentro de la cavidad abdominal. Ascende posterior al píloro y hacia la derecha, descansa sobre y anterior a la cabeza del páncreas y pasa por debajo de la vesícula biliar y anterior al conducto biliar común, arteria gastroduodenal y vena porta. La segunda porción de 7 cm de longitud está cubierta por el peritoneo del compartimento infracólico de la cavidad peritoneal. El hilio del riñón derecho y los vasos renales derechos quedan por detrás. Los cuerpos vertebrales lumbares y la vena cava inferior quedan mediales. La ampolla de Vater, lugar al que desembocan el conducto hepático común y el conducto pancreático, se localiza en este segundo segmento duodenal, a 9-10 cm del anillo pilórico. La tercera y cuarta parte de 7-9 cm atraviesan a nivel de la tercera vértebra lumbar, por la vena cava y la aorta, relacionándose en la parte superior con el proceso uncinado del páncreas e incurvándose hacia la izquierda, a la flexura duodenoyeyunal donde es suspendido por el ligamento de Treitz. La entrada del intestino a la cavidad peritoneal marca el inicio del yeyuno, no estando claramente definido el límite con el íleon. De forma arbitraria se considera que el yeyuno constituye el tercio proximal de la porción intraperitoneal del intestino delgado y el resto íleon. El mesenterio aparece a lo largo de una línea oblicua en la pared intestinal posterior desde la flexura duodenoyeyunal hasta la fosa iliaca derecha.

La **irrigación** del duodeno viene dada por la arteria gastroduodenal (rama del tronco celiaco). La arteria mesentérica superior (AMS) irriga desde la porción proximal del yeyuno hasta la

proximal del colon transverso. La arteria mesentérica inferior (AMI) irriga resto del colon hasta el recto. Cada arteria va dando ramas a medida que se acercan al intestino, estableciéndose una rica comunicación arterial a través de las arcadas mesentéricas. Finalmente los vasos penetran en la pared intestinal constituyendo plexos a nivel submucoso y mucoso, asegurando así el adecuado aporte sanguíneo al órgano. El drenaje venoso sigue el sentido inverso. Iniciándose en las vénulas capilares y finalizando en la vena mesentérica superior que recibe el drenaje venoso del duodeno distal, yeyuno, íleon, apéndice, ciego, colon ascendente y transverso y esta a su vez desemboca en la vena porta. Esta última recoge también el drenaje de la vena mesentérica inferior, vena esplénica, venas gástricas izquierda y derecha y vena pancreatoduodenal superior, antes de penetrar en el hígado. El **drenaje linfático** comienza en los vasos linfáticos de terminación ciega conocidos como: quilíferos. Localizados en los núcleos de las vellosidades, que desembocan en la red linfocapilar y esta a su vez en el plexo linfático submucoso. Este drena a los vasos linfáticos mesentéricos que conducen la linfa hasta la cisterna del quilo (de Pecquet), ensanchamiento del conducto torácico al que desembocan los troncos lumbares e intestinales. El conducto torácico discurre posterior a la aorta desembocando en el ángulo que forman la vena yugular interna y la subclavia izquierda (ángulo venoso). A lo largo del recorrido de los vasos linfáticos se encuentran interpuestos los nódulos linfáticos, órganos de filtración linforreticular de 1-25 mm encargados de evitar el paso de agentes patógenos o células tumorales al torrente sanguíneo. La **inervación** del aparato digestivo es dual. Por un lado encontramos el sistema nervioso entérico, sistema autorrestringido compuesto por múltiples ganglios repetidos que se conocen como plexo submucoso de Meissner y plexo mientérico de Auerbach. Estos plexos se encargan respectivamente de la regulación de la muscularis mucosae, las vellosidades y el peristaltismo intestinal. El sistema nervioso entérico comunica con los ganglios celiaco y mesentérico superior del sistema nervioso simpático, con el nervio neumogástrico o vago y con la médula espinal y el sistema nervioso central. También recibe aferencias de ramas sensitivas localizadas a nivel de la mucosa, así como también señales y aferencias de mastocitos y otras células del sistema inmunológico localizadas en la pared intestinal que segregan sustancias paracrinas y endocrinas. Y por otro lado tenemos el sistema nervioso autónomo representado por los sistemas simpático y parasimpático que modulan al sistema anterior. La inervación parasimpática, a través de la acetilcolina, estimula la peristalsis, inhibe los músculos de los esfínteres y desencadena la actividad secretoria. Los nervios simpáticos, a través de la norepinefrina, inhiben la peristalsis y activan los músculos de los esfínteres. Las

células intersticiales de Cajal son consideradas como las células marcapasos del tubo digestivo. De origen mesenquimal, son capaces de generar y propagar estímulos eléctricos, siendo intermediarias entre la inervación y la musculatura. Coordinan la motilidad intestinal y el peristaltismo.

Histología:

El aparato digestivo consiste en una estructura tubular, muscular, revestida internamente por una mucosa cuyas características varían según las funciones de cada segmento. Histológicamente está formado por cuatro capas concéntricas que son de adentro hacia afuera (Figura 2):

1. Capa interna o mucosa. Rodea al lumen e incluye una capa muscular interna o muscularis mucosae compuesta de una capa circular interna y una longitudinal externa de músculo liso.
2. Capa submucosa compuesta de tejido conectivo denso irregular fibroelástico. Contiene el llamado plexo submucoso de Meissner, que es un componente del sistema nervioso entérico y controla la motilidad de la mucosa y en menor grado la de la submucosa, y las actividades secretorias de las glándulas.
3. Capa muscular externa compuesta, al igual que la muscularis mucosae, por una capa circular interna y otra longitudinal externa de músculo liso (excepto en el esófago, donde hay músculo estriado). Esta capa muscular tiene a su cargo los movimientos peristálticos que desplazan el contenido de la luz a lo largo del tubo digestivo. Entre sus dos capas se encuentra otro componente del sistema nervioso entérico, el plexo mientérico de Auerbach, que regula la actividad de esta capa.
4. Capa serosa o adventicia. Se denomina según la región del tubo digestivo que reviste, serosa si es intraperitoneal y adventicia si es retroperitoneal. La adventicia está conformada por un tejido conectivo laxo. La serosa aparece cuando el tubo digestivo ingresa al abdomen y la adventicia pasa a ser reemplazada por el peritoneo.

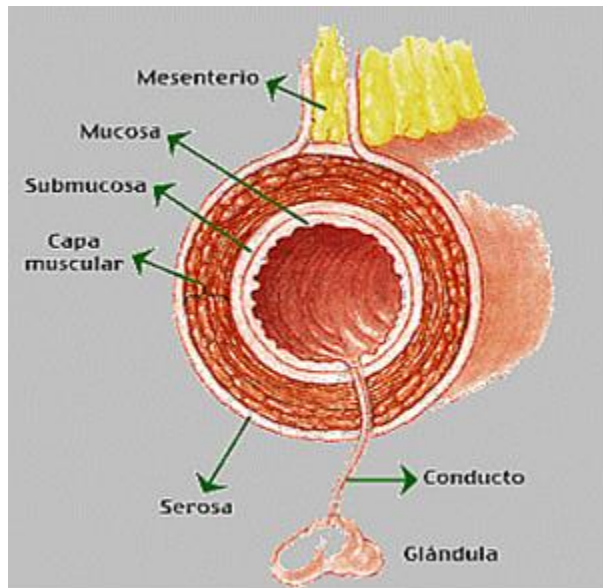


Figura 2. Estructura básica del tubo digestivo

El epitelio del intestino delgado está organizado en dos compartimentos morfológica y funcionalmente distintos:

- Los villi que son proyecciones o evaginaciones de la mucosa. Contienen un eje central fibrovascular revestido por epitelio. Su longitud y forma varía según las diferentes regiones del intestino.
- Las criptas de Lieberkühn que son invaginaciones tubulares localizadas en la base de los villi que se extienden hasta la muscularis mucosae. Cada cripta proviene de un único clon celular. El epitelio que reviste las invaginaciones muestra una población celular heterogénea.

El intestino delgado presenta uno de los índices de proliferación más altos del cuerpo. Esto permite mantener la integridad del epitelio ante los agentes nocivos a través del equilibrio entre la muerte y la proliferación celular. Las células madre se encuentran localizadas en la parte profunda de las criptas. A partir de ellas se producen fenómenos de proliferación y migración a lo largo del epitelio, que dan lugar en un plazo de 5-6 días a una célula epitelial madura. En el caso de los enterocitos presentan una vida media aproximada de dos días. Una vez pasado este tiempo se pone en marcha el mecanismo de muerte celular programada (apoptosis), descamando la célula muerta a la luz intestinal. Las células madres van a dar origen a los cuatro tipos de células epiteliales que son: los enterocitos, las células caliciformes, las células endocrinas y las células de Paneth. Todo este proceso se encuentra estrechamente regulado por la expresión de genes como MATH1, Cdx1 o Cdx2.

Cada tipo celular muestra una estructura y función determinada (Figura 3):

- Los enterocitos son células cilíndricas altas, polarizadas, con capacidad absorptiva. Podemos distinguir varios dominios en la membrana. En el dominio vellosos apical, se localiza el borde en cepillo constituido por microvellosidades que incrementan unas 30 veces la superficie de la membrana plasmática expuesta a la luz. Aquí tienen lugar procesos de digestión, transporte hidroelectrolítico y de defensa de la mucosa. El dominio basolateral es el encargado de mantener la adhesión celular, el transporte de IgA e IgM y la liberación de los quilomicrones entre otras funciones. El epitelio asociado a folículo es una capa celular que constituye la transición entre los agregados linfoides y la luz intestinal. En esta zona se identifican abundantes linfocitos intraepiteliales. Este epitelio se origina de las criptas y se diferencia hacia enterocitos y células M. Estas últimas son características de esta zona y están encargadas de transportar macromoléculas y microorganismos y de inducir la respuesta inmune en la mucosa.
- Las células caliciformes muestran un papel importante en la protección de la mucosa. Secretan moco, iones y agua al gel mucoso que protege la superficie epitelial. Son más numerosas en el íleon. El núcleo se localiza en la porción basal y el citoplasma se encuentra lleno de vacuolas de mucina.
- Las células de Paneth se localizan en las criptas, constituyendo aproximadamente el 1% de las células intestinales. Son células eosinofílicas, piramidales con abundantes gránulos supranucleares que contienen lisozima, fosfolipasa A y defensinas. Su secreción participa en la inmunidad de la mucosa.
- Las células endocrinas producen hormonas de acción local que regulan la motilidad y la secreción gastrointestinal. Contienen gránulos eosinófilos subnucleares. En general cada célula produce una sola hormona, que puede ser serotonina, somatostatina, enteroglucagón y secretina.



Figura 3. Histología de la mucosa intestinal

Las células indiferenciadas de las criptas constituyen las células de reserva, dividiéndose continuamente para sustituir a las células desaparecidas. Otro tipo celular que también se interrelaciona con el epitelio intestinal es el fibroblasto pericriptico, este juega un papel crucial en la diferenciación del epitelio de la vellosidad al secretar la lámina basal.

El tejido linfoide asociado con el intestino (GALT) se compone de folículos linfoides a lo largo del tubo gastrointestinal. Casi todos los folículos linfoides están aislados entre si; sin embargo, en el íleon forman agregados linfoides, conocidos como placas de Peyer. Están compuestas por linfocitos B rodeadas de una región más laxa de linfocitos T y múltiples macrófagos. Las regiones adyacentes inmediatas a los folículos linfoides están recubiertas de células tipo escamoso (células M). Otras formas de agregados linfoides incluyen los folículos linfoides aislados y los agregados linfoides submucosos. El número de estas estructuras aumenta según se avanza en sentido distal y representa una reserva de tejido linfoide en la mucosa que puede ser activada en situaciones de estímulo antigénico.

En la lámina propia también se pueden observar otros tipos de células que intervienen en los procesos de inmunidad e inflamación. Son las células plasmáticas, los eosinófilos, los macrófagos y los mastocitos.

Fisiología:

La digestión es un conjunto de procesos mecánicos y bioquímicos con los cuales los alimentos se transforman en sustancias nutritivas que pueden ser asimiladas por el organismo. Se divide en cuatro etapas:

- Ingestión del alimento.

- Digestión mecánica y química
- Absorción
- Excreción

La digestión comienza en la boca donde los alimentos se mastican y se mezclan con la saliva que contiene enzimas que inician el proceso químico de la digestión, formándose el bolo alimenticio. La comida es comprimida y dirigida desde la boca hacia el esófago mediante la deglución, y del esófago al estómago, donde los alimentos son mezclados con ácido clorhídrico que los descompone, sobre todo a las proteínas desnaturizándolas. El bolo alimenticio se transforma en quimo. Debido a los cambios de acidez (pH) en los distintos tramos del tubo digestivo se activan o inactivan diferentes enzimas que descomponen los alimentos. En el intestino delgado la bilis secretada por el hígado, favorece la emulsión de las grasas y gracias a las lipasas de la secreción pancreática se produce su degradación a ácidos grasos y glicerina. Además el jugo pancreático contiene proteasas y amilasas que actúan sobre proteínas y glúcidos. Toda esta mezcla constituye ahora el quilo.

Por absorción se entiende el proceso de transporte de los nutrientes desde luz intestinal hasta el torrente sanguíneo. Este proceso se ve favorecido por la disposición del epitelio intestinal que tiene una amplísima superficie de absorción ya que los pliegues de la mucosa triplican la superficie de contacto, las vellosidades intestinales multiplican por 10 el área y las microvellosidades hasta 600 veces. La absorción puede producirse a través del enterocito y se le llama absorción transcelular. El nutriente entra en la célula por la membrana apical y tiene su salida hacia el vaso sanguíneo por la membrana basolateral. Otra posibilidad es la absorción paracelular, cuando los nutrientes pasan entre las uniones de los enterocitos. Las células del intestino delgado sólo absorben monosacáridos como glucosa, galactosa o fructuosa. Primero se digiere el almidón hasta disacáridos y después hasta monosacáridos. La amilasa de la saliva comienza el proceso de la digestión del almidón en la boca, aunque su función es breve puesto que el pH bajo del contenido gástrico la inactiva. La amilasa pancreática digiere las uniones internas 1,4-glucosídicas del almidón y crea tres disacáridos, dextrina α -límite, maltosa y maltotriosa. Las enzimas del borde en cepillo intestinal, α -dextrinasa, maltasa y sucrasa digieren adicionalmente estos disacáridos hasta monosacáridos. El producto final de cada uno de los pasos digestivos es la glucosa, un monosacárido que puede ser absorbido por las células epiteliales. La glucosa se transporta por un mecanismo de

cotransporte del sodio. El transporte inicial de sodio a través de las membranas basolaterales de las células del epitelio intestinal es el que proporciona la fuerza para el desplazamiento de la glucosa a través de las membranas. La fructuosa se absorbe por difusión facilitada y al penetrar en la célula se fosforiliza en glucosa que se transporta a la sangre.

La pepsina inicia la digestión de proteínas en el estómago y la concluyen las proteasas pancreáticas en el intestino delgado. Las endopeptidasas (pepsina, tripsina, quimiotripsina, y elastasa) hidrolizan las uniones peptídicas internas entre las proteínas. Las exopeptidasas (A y B) hidrolizan un solo aminoácido a la vez desde un extremo C-terminal de proteínas y péptidos. Las células principales secretan pepsinógeno que a pH gástrico se activa hacia pepsina y su acción termina cuando el quimo entra al duodeno. La activación de tripsinógeno a tripsina por la enterocinasa, produce activación de los precursores de las otras cinco enzimas: tripsina, quimiotripsina, elastasa y carboxipeptidasa A y B. Estas hidrolizan las proteínas hasta aminoácidos y péptidos. Después las proteasas se digieren entre si dando lugar a más péptidos y aminoácidos. A través de las membranas lumbales de las células epiteliales intestinales se absorben los dipéptidos, tripéptidos y algunos aminoácidos libres. La energía para la mayor parte de este transporte proviene del cotransporte del sodio. Cuando el sodio entra a la célula a favor de gradiente arrastra los péptidos y aminoácidos. La digestión de los lípidos comienza con la acción de la lipasa salival, que hidroliza el 10% de triglicéridos. El movimiento gástrico rompe los lípidos y los transforma en gotas pequeñas. En el intestino delgado la colecistoquinina hace más lento el vaciamiento gástrico en presencia de lípidos. Los ácidos biliares junto con lisolecticitina rodean y emulsionan los lípidos. La emulsión crea pequeñas gotas de lípidos dispersas en la solución intestinal acuosa. El propósito de esto es suministrar una mayor área para la acción de enzimas pancreáticas. La colipasa que se produce en los jugos pancreáticos y se activa por acción de la tripsina desplaza los ácidos biliares de la interfase lípido- agua y se une a la lipasa pancreática para proceder la digestión. La hidrolasa éster de colesterol es secretada como enzima activa e hidroliza los ésteres de colesterol para convertirlos en colesterol libre y ácidos grasos. También hidroliza las uniones éster de los triglicéridos para producir glicerol. La fosfolipasa A2 se activa mediante tripsina e hidroliza fosfolípidos para formar lisolectitina y ácidos grasos. Los productos finales son monoglicéridos, ácidos grasos, colesterol, lisolectitina y glicerol. Estos productos finales de la digestión de las grasas son solubles en el quimo y se transportan a las microvellosidades, penetrando en las hendiduras que aparecen entre estas cuando se mueven. Difunden al

exterior de las micelas de sales biliares y pasan a la célula epitelial porque son solubles a las membranas de esas células. Dentro son captados por el retículo endoplásmico liso donde se forman nuevos triglicéridos que viajan con los quilomicrones para desembocar en el torrente circulatorio.

La etapa de excreción se produce en el colon (mitad proximal) donde se absorbe la mayoría de agua y electrolitos. Las heces excretadas contienen menos de 100 ml de líquido estando formadas por tres cuartas partes de agua y una cuarta parte por materia sólida. La absorción de iones sodio y cloro crea un gradiente osmótico a través de la mucosa y del intestino grueso que, a su vez, favorece la absorción de agua. Además la mucosa del intestino grueso secreta bicarbonato que intercambia por iones cloro; el bicarbonato ayuda a neutralizar los productos terminales ácidos de la acción de las bacterias en el intestino grueso, que a su vez, favorece la absorción de agua.

ASPECTOS GENERALES DEL TRASPLANTE INTESTINAL:

Fracaso intestinal:

Actualmente el trasplante intestinal es una opción terapéutica viable para aquellos pacientes que padecen fracaso intestinal (FI). Este término se aplica cuando los pacientes son incapaces de mantener un estado nutricional normal y un balance positivo de nutrientes mediante la alimentación por vía entérica, debido a una reducción crítica de la masa de intestino funcionante, por debajo de la cual no es posible satisfacer dichos requerimientos y precisan cubrir una porción o la totalidad de los requerimientos calóricos a través de la nutrición parenteral (NP) (22). Por tanto el FI se va a considerar cuando se precise de NP o fluidoterapia para mantener el equilibrio nutricional y la composición corporal.

En la mayoría de los casos el fallo intestinal es producido por una resección quirúrgica para tratar la enfermedad del paciente, produciendo un intestino corto, mientras que en otros casos el intestino tiene una longitud suficiente pero es incapaz de absorber los líquidos y nutrientes necesarios para satisfacer las demandas metabólicas del organismo dando como resultado el fracaso. Las causas de este son diferentes entre adultos y niños, representando el intestino corto la indicación más frecuente para el trasplante (23-24).

El **síndrome de intestino corto** (SIC) es una entidad compleja que puede ser el resultado tanto de la pérdida física de segmentos de intestino delgado como de una pérdida funcional

(22). Esta pérdida anatómica o funcional de una parte del intestino delgado ocasiona un cuadro clínico de graves alteraciones metabólicas y nutricionales debidas a la reducción de la superficie absorptiva intestinal efectiva (25). Nightingale J. estableció que un paciente tiene un intestino corto cuando existe una longitud insuficiente de intestino funcionante para permitir una absorción adecuada, de modo que son necesarios suplementos de macronutrientes y/o agua y electrolitos para mantener la salud y/o crecimiento (26). La **insuficiencia intestinal** se refiere a la disminución de la absorción intestinal, que puede compensarse por la hiperfagia o por la adaptación física o metabólica intestinal.

El fallo intestinal causado por las formas más severas de SIC es el resultado de una pérdida intestinal masiva causado por cirugía, trauma o infarto, y menos comúnmente por defectos congénitos o una reducción en la superficie absorptiva resultado de una enfermedad difusa. Cuando se produce una pérdida masiva de la longitud del intestino mayor del 70-75% o el intestino remanente es menor de 200 cm se considera que existe un SIC. Sin embargo, aunque la evidencia sugiere que estos pacientes con menos de 200 cm de intestino delgado desarrollarán con alta probabilidad un fallo intestinal, la absorción no depende sólo de la longitud del intestino residual, ya que existen otros factores pronósticos como la calidad del intestino remanente y la presencia o no de colon. La clínica asociada al SIC también está en función de la zona de intestino delgado afectada por la resección o la alteración funcional (24). La mayor parte de la absorción de carbohidratos y proteínas tiene lugar en el duodeno y yeyuno, mientras que el íleon es responsable de la absorción de grasas y vitaminas liposolubles (unidas a sales biliares excretadas por el hígado al duodeno). El yeyuno tiene vellosidades más altas, criptas más profundas y una mayor actividad enzimática que el íleon, por lo que en condiciones normales un 90% de la digestión y absorción de macro y micronutrientes tendrá lugar en los primeros 100-150 cm de yeyuno. En el íleon terminal tiene lugar la absorción de vitamina B12 unida al factor intrínseco secretado en el estómago. Los fluidos y electrolitos son absorbidos predominantemente en el íleon (80%) y colon, lo que implica una absorción diaria de 2-3 litros de agua ingerida y 7-9 litros de secreciones gastrointestinales.

Los principales factores asociados con el pronóstico del fallo intestinal asociado a SIC son la localización del segmento intestinal resecao, la longitud del remanente intestinal, la presencia de enfermedad subyacente, la presencia o ausencia de colon y de válvula ileocecal, y la naturaleza de la enfermedad de base. También la edad del paciente tiene un papel

pronóstico (27). El fallo intestinal asociado al SIC puede ser transitorio o permanente. La adaptación del intestino residual es un factor fundamental para determinar si un paciente con SIC progresará a FI y dependencia de NP. La **adaptación intestinal** es el proceso que trata de restablecer la absorción intestinal total de macronutrientes, minerales y agua, a aquella previa a la resección intestinal (28). La adaptación intestinal puede ocurrir gracias a que el paciente haga una ingesta superior a la normal (hiperfagia) pero además, el intestino también es capaz de adaptarse para asegurar una absorción más eficaz por unidad de superficie, bien aumentando su superficie absorbente (adaptación estructural) y/o enlenteciendo el tránsito gastrointestinal (adaptación funcional). Los cambios adaptativos se describieron inicialmente en los años 50 (28-30). Estudios animales han demostrado que el intestino tras una resección o privación de nutrientes sufre una variedad de respuestas adaptativas que incluyen hiperplasia, hipertrofia o expresión de novo de moléculas funcionales. Es un proceso que se desarrolla a lo largo de uno o dos años donde el intestino se hipertrofia y se hace más eficiente para la absorción. La adaptación estructural del intestino remanente supone un aumento en diámetro y en altura de las vellosidades intestinales, lo que incrementa la superficie absorbente así como un incremento en la circunferencia de la luz intestinal y en el grosor de la pared. La adaptación funcional se caracteriza por un incremento en la tasa de absorción de nutrientes, que es el resultado de los cambios estructurales, el enlentecimiento del tránsito y/o alteraciones en eventos moleculares intracelulares, con un aumento en el transporte y/o la actividad enzimática. Para este proceso de adaptación, es importante la presencia de nutrientes en la luz intestinal, por lo que se debe iniciar la nutrición oral o enteral lo más pronto posible. El sobrecrecimiento bacteriano puede dificultar la adaptación intestinal y la independencia de la NP (24).

También se están investigando marcadores biológicos que puedan orientar sobre la masa funcional de intestino. Uno de los últimos en desarrollarse es la determinación de citrulina en plasma o suero (31). La **citrulina** es un aminoácido no esencial, producido fundamental por los enterocitos, que interviene en el metabolismo intermedio y que no está destinado para la síntesis de péptidos o proteínas. Su concentración plasmática se encuentra en torno a 40 μmol/L. Determinaciones en plasma por debajo de 20 μmol/l, que representa la mitad de los valores normales, y por encima de los dos años de haber reestablecido la continuidad digestiva después de una resección intestinal masiva, están relacionadas con la presencia de FI permanente y de manera significativa. La determinación de este marcador biológico no debe

realizarse en presencia de insuficiencia renal (IR) ya que en esta situación se alteran los niveles con tendencia a aumentar. Los valores plasmáticos de citrulina parecen correlacionarse con la longitud de intestino remanente y con la capacidad absorbiva. Asimismo, pueden tener una capacidad mayor para predecir la evolución hacia un FI permanente que los centímetros de intestino remanente tras la resección (32).

Por último, existe otra manera de definir la presencia de un FI, que es independiente tanto de la longitud remanente de intestino, como de la funcionalidad de éste. Ésta hace referencia a la cantidad de NP que precisa el paciente para mantener un adecuado estado nutricional si se trata de un paciente adulto, o para mantener el desarrollo pondero-estatural si se trata de un niño (33).

Manejo del FI:

El FI agudo o temporal representa el 90% de los fracasos intestinales y en principio hay que considerarlo potencialmente reversible. El crónico es menos común y casi siempre se asocia a un acortamiento intestinal severo. En todos los casos, el tratamiento debe cumplir 4 objetivos fundamentales: proporcionar un soporte hidroelectrolítico y nutritivo adecuado, reducir la severidad del FI, prevenir y tratar las complicaciones de la enfermedad de base y mejorar la calidad de vida. En las formas más graves, existen 3 pilares básicos para su tratamiento: 1º rehabilitación intestinal, 2º nutrición parenteral (NP) o enteral prolongada y 3º trasplante intestinal (TI).

La **rehabilitación intestinal** hace referencia al conjunto de medidas multidisciplinarias encaminadas a reestablecer la mayor capacidad funcional posible del tracto digestivo. En fases iniciales el objetivo fundamental es evitar la pérdida de líquido y electrolitos administrando soluciones parenterales estándares. Una vez que el paciente se ha estabilizado el soporte nutricional debe administrarse por la vía parenteral y/o enteral, constituyendo la tolerancia a la dieta oral, el éxito final de la adaptación intestinal en estos procesos. La cirugía puede estar indicada en algunos casos para incrementar la superficie absorbiva.

La **NP** es una medida de apoyo fundamental, que a veces hay que mantener durante un tiempo prolongado, llegando a adquirir en algunos casos un carácter permanente, salvo que complicaciones ligadas a la técnica, o la evolución clínica desfavorable la contraindiquen. Es un tratamiento fundamental durante el FI. Al principio aplicada en el hospital, puede

administrarse en el domicilio del paciente cuando éste se estabiliza, lo que supone una mejoría importante de la calidad de vida, pudiéndose incluso aportar cíclicamente, durante la noche, para que durante el día pueda desarrollar sus actividades cotidianas. Sin embargo esta medida no está exenta de complicaciones graves, como la sepsis por catéter o la trombosis venosa. Ambas complicaciones son casi inevitables en tratamientos prolongados y se controlan con antibióticos y agentes trombolíticos, pero la repetición de los episodios puede comprometer los accesos venosos ulteriores y convertir en imprescindible el TI.

La enfermedad hepatobiliar es otra complicación grave que puede presentar la NP. Se describe en el 40-60% de los niños y en el 15-40% de los adultos sometidos a NP durante periodos prolongados de tiempo. La patogénesis es multifactorial destacando en los niños su relación con la prematuridad (déficit de taurina, colina y cisteína), bajo peso, tiempo de NP e infecciones. En adultos el cuadro es menos frecuente y se relaciona con la edad, tiempo de NP, aporte calórico total, sobrecarga de carbohidratos o lípidos, y también puede influir el déficit de colina. La causa exacta es desconocida, pero casi siempre se asocia a colestasis, debido a que la ausencia de aporte de nutrientes por vía digestiva reduce la secreción hormonal, en particular de colecistoquinina, que afecta al vaciado de la vesícula y por lo tanto a la producción y flujo de bilis y altera la secreción de otras hormonas gastrointestinales (gastrina, motilina, polipéptido insulino dependiente, secretina, polipéptido pancreático, glucagón, y péptido intestinal vasoactivo). Como consecuencia, aparece estasis intestinal y descenso de la contractilidad de la vesícula biliar, aumento del ácido litocólico, sobrecrecimiento bacteriano, translocación bacteriana y sepsis. Además se altera la circulación enterohepática de las sales biliares y las bacterias intestinales las desconjugan, dando lugar a metabolitos hepatotóxicos. En presencia de colestasis, la malabsorción aumenta por el descenso del flujo biliar y el déficit de ácidos biliares; y la presencia de hipertensión portal con circuitos porto-sistémicos, determina edema de pared, enteropatía exudativa y hemorragia, que en su máxima expresión obliga al trasplante de hígado solo o combinado con el intestinal. Los hallazgos clínicos incluyen esteatosis hepática, colestasis, colelitiasis y fibrosis hepática, todo lo cual puede progresar hacia la cirrosis biliar, hipertensión portal y fracaso hepático irreversible (34).

Nutrición Parenteral Domiciliaria (NPD):

La NPD está reservada para aquellos pacientes con un intestino no funcionante y que por su estabilidad clínica no se benefician de la estancia hospitalaria (35). Se trata de una modalidad de soporte nutricional, que permite la administración de las soluciones de NPT en el propio domicilio del paciente.

Este tipo de tratamiento se inició a finales de 1960 en Estados Unidos y en algunos países europeos a principios de 1970 aunque en España, los primeros datos sobre pacientes con NPD son de 1980. Esta modalidad asistencial depende estructuralmente de los hospitales, es prestada por profesionales especializados y engloba diversos esquemas asistenciales que responden a la idiosincrasia de cada Sistema Sanitario de las diferentes Comunidades Autónomas. En España desde 1995 se dispone de publicaciones periódicas de los resultados sobre Nutrición Artificial Domiciliaria que se registran de forma voluntaria por los profesionales (enfermeras, médicos, farmacéuticos y dietistas) implicados en el tratamiento de estos pacientes. Este registro, desarrollado y mantenido por el grupo de trabajo de Nutrición Artificial Domiciliaria y Ambulatoria (NADYA) perteneciente a la Sociedad Española de Nutrición Parenteral y Enteral (SENPE) y se inició en 1992. Su objetivo es implicar a todos los profesionales relacionados con la nutrición artificial domiciliaria para conseguir un registro válido y fiable.

Según los datos publicados correspondientes al año 2010 se estima una prevalencia de NPD de 3,15 pacientes/millón habitantes. Siendo estas cifras inferiores a las publicadas en registros europeos y en Estados Unidos (con 4 casos/millón habitantes y 120 casos/millón habitantes respectivamente). La distribución geográfica está focalizada en Madrid y Cataluña donde se concentra el 70% de los casos. Su aplicación más frecuente es la de tratamiento paliativo en pacientes oncológicos. El porcentaje de pacientes considerados como candidatos para trasplante intestinal se mantiene en un rango entre 23% y 29%. La complicación más frecuente sigue siendo la infección relacionada con el catéter (36).

En un reciente estudio prospectivo, realizado por el grupo europeo de nutrición artificial domiciliaria y fallo intestinal crónico (HAN-CIF group) de la Sociedad Europea de Nutrición Parenteral y Enteral (ESPEN), se realizó un seguimiento a 5 años de los pacientes con NPD candidatos y no candidatos a TI. En este estudio los autores concluyen que sólo la presencia de tumores desmoides de la cavidad abdominal y el fallo hepático asociado a la NPD,

deberían considerarse como indicaciones claras de TI, ya que son en las que se ha demostrado una mayor mortalidad en el grupo de pacientes tratados con NPD. En el resto de situaciones clínicas (incluyendo aquellos pacientes con complicaciones del catéter, síndrome de intestino ultracorto) el TI debería considerarse de forma individual en casos aislados pues con los datos de este estudio su supervivencia a largo plazo con NPD es buena (sin diferencias estadísticamente significativas entre los candidatos y no candidatos a TI) y no justifica los riesgos asociados a este procedimiento (37).

A pesar del progreso que ha supuesto la NP, se trata de una práctica no exenta de complicaciones y que conforme se incrementa el tiempo de administración, cada vez es mayor el número de pacientes en los que alcanza sus límites. Actualmente, para estos enfermos el TI es una alternativa terapéutica posible que persigue como objetivo la reposición del “aparato absorbivo” no existente, perdido o irreversiblemente deteriorado por la enfermedad.

INDICACIONES DEL TRASPLANTE INTESTINAL:

Como se ha indicado en el apartado de la introducción histórica, el TI ha sido de los últimos trasplantes de órganos sólidos en desarrollarse, debido a las dificultades técnicas y de manejo que ha presentado hasta el advenimiento de las nuevas terapias inmunosupresoras y avances en la técnica quirúrgica. El TI y TMV están aprobados desde octubre del 2000 por la Health Care Financing Administration (HCFA) en Estados Unidos y representan actualmente una opción terapéutica viable para aquellos pacientes con FI crónico e irreversible (10, 13, 38-39). Debido a que los regímenes de NPD han supuesto unas cifras de supervivencia entorno al 80-94 % y se trata de una opción terapéutica con una tasa de éxito elevada y escasos efectos indeseables (37), los casos en los que se ha optado por el trasplante representan aquellos donde existe un FI irreversible y fracaso de la NPD con presencia de complicaciones graves. Las etiologías que producen FI irreversible y crónico difieren entre la población pediátrica y la adulta representándose en los gráficos 1 y 2 (14). El SIC de diversa etiología es la indicación más frecuente representando el 65% en adultos y el 63% en niños. En los adultos dentro de las causas que llevan al SIC la isquemia, la enfermedad de Crohn, las alteraciones en la motilidad y los tumores son las más frecuentes. En la población pediátrica la patología funcional y malformativa va a estar más relacionada. El retrasplante de pacientes ya sometidos a un TI previo es otra causa que se encuentra en incremento.

En los pacientes sometidos a régimen de NPT-NPD hay tres aspectos fundamentales que deben ser considerados a la hora de plantear el trasplante. Estos son:

1. El momento de inicio y el tiempo de dependencia de la NPT. Una dependencia por un periodo superior a 2 años indica que las posibilidades de lograr una adaptación intestinal suficiente que permita la alimentación oral son reducidas.
2. Las complicaciones sépticas de los accesos vasculares centrales (subclavios, femorales, iliacos...) con la consiguiente pérdida de los mismos. Un mínimo de dos vías centrales deben de ser viables en los pacientes en los que se va a efectuar un trasplante de intestino delgado (40).
3. El progresivo desarrollo de enfermedad hepática crónica que puede llegar a terminal y condicionar a la realización de un trasplante combinado hepato-intestinal (THI) (37,41).

Según el grupo de trabajo del Simposio Internacional de Trasplante Intestinal, celebrado en Bruselas en julio de 2005, el TI estaría indicado para “aquellos enfermos con fallo intestinal irreversible en los que es previsible una mala evolución con nutrición parenteral” (42).

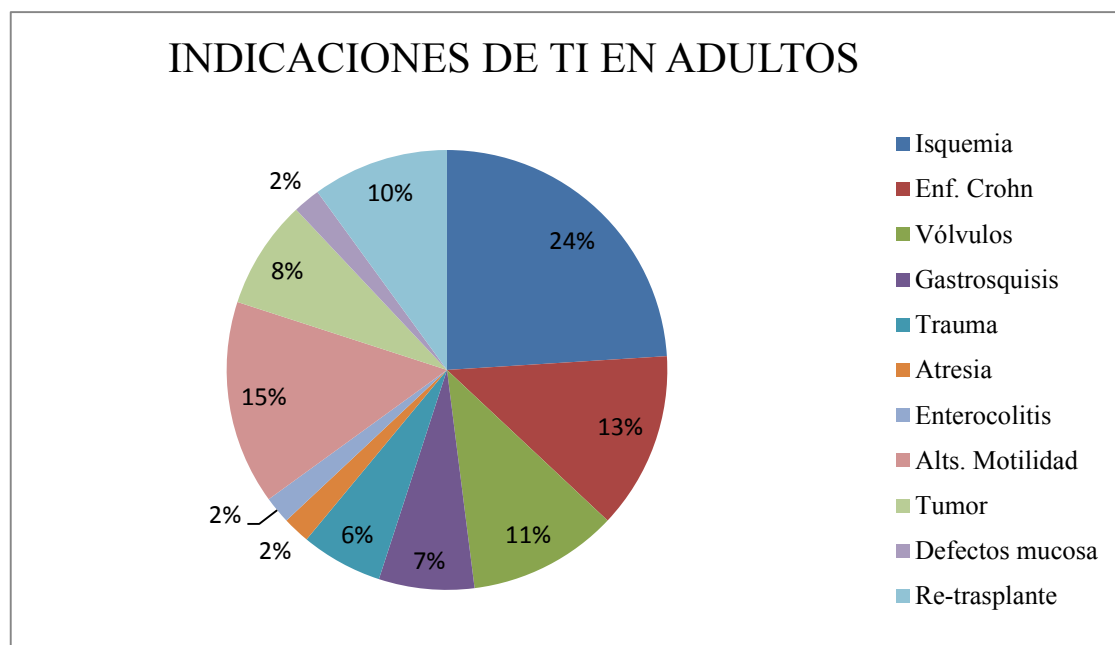


Gráfico 1. Etiología del FI en adultos. Datos extraídos de *Intestinal Transplant Registry Report 2011* con la autorización de reproducción del Dr. Marquez (14).

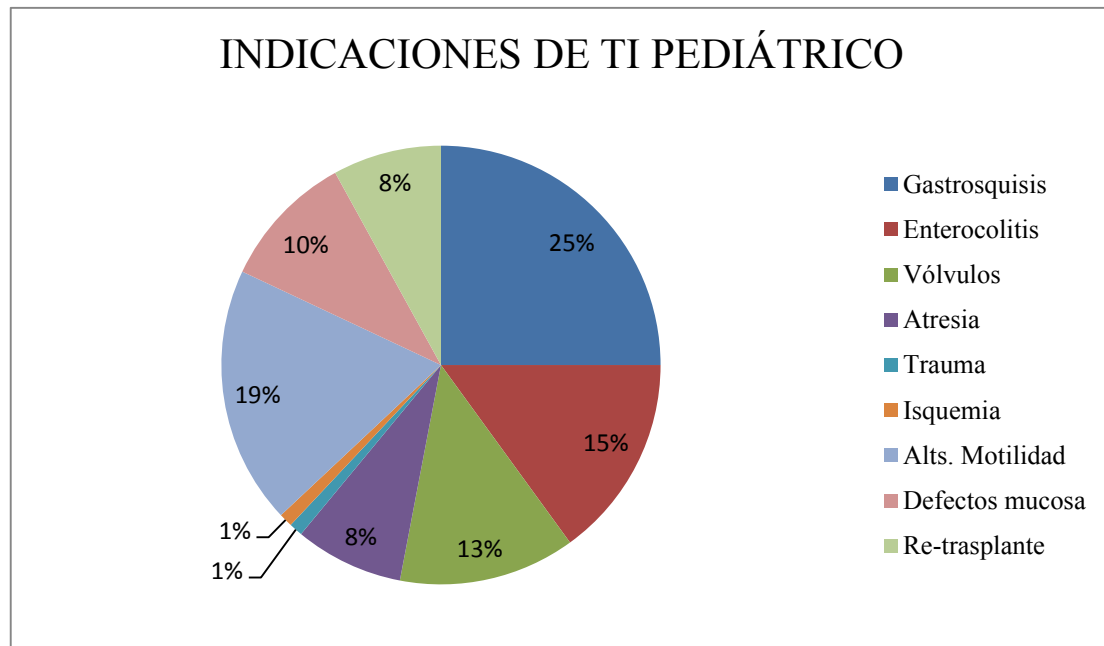


Gráfico 2. Indicaciones del TI pediátrico. Datos extraídos de *Intestinal Transplant Registry Report 2011* con la autorización de reproducción del Dr. Marquez (14).

Los criterios de TI están actualmente consensuados tanto en adultos como en niños e incluyen (Tabla 1) (43-44):

1. Irreversibilidad del FI siendo imprescindible que se hayan agotado todas las opciones terapéuticas convencionales antes de sentar la indicación de TI.

2. Desarrollo de complicaciones graves relacionadas con la administración de NP. Se aceptan como indicaciones las siguientes:

- Daño hepático irreversible, relacionado con la administración de NP: Estructuralmente el daño es progresivo, desde fibrosis en cualquiera de sus grados hasta cirrosis. Recientemente se ha propuesto sustituir el término “daño hepático relacionado con nutrición parenteral” por el de “daño hepático relacionado con el FI”, más general y que responde mejor a la naturaleza multifactorial del cuadro.

- Pérdida de accesos venosos profundos por trombosis: existe consenso en aceptar como indicación la pérdida de la mitad de los accesos convencionales (venas yugulares y femorales en niños pequeños, yugulares, subclavias y femorales en niños mayores) (44).
- Sepsis graves relacionadas con el uso de catéteres venosos profundos: dos o más episodios al año de sepsis sistémica que requieran hospitalización con shock y fungemia.

- FI que habitualmente conduce a muerte precoz, a pesar de un soporte nutricional óptimo: en casos donde no sea posible una adaptación intestinal (síndrome de intestino ultracorto, intestino no reconstruible...) se aconseja adelantar la indicación de TI antes del desarrollo de complicaciones relacionadas con la administración de NP. También en trastornos congénitos de la mucosa intestinal que cursan con diarrea intratable, para anticiparse al desarrollo de daño hepático irreversible o en casos de pseudoobstrucción idiopática crónica intestinal

Tabla 1. Indicaciones del TI.

INDICACIONES DEL TRASPLANTE INTESTINAL	
FI con complicaciones de riesgo vital	Colestasis mantenida
	Pérdida de accesos venosos
	Sepsis graves o repetidas
	Deshidratación grave frecuente
FI que conduce a muerte precoz a pesar de NP óptima	SIC extremo
	Trastornos congénitos del epitelio intestinal
FI con alta morbilidad y pobre calidad de vida	Hospitalizaciones frecuentes
	Pseudoobstrucción crónica idiopática

CONTRAINDICACIONES DEL TI:

Las contraindicaciones para el TI y para el TMV son similares a las que se establecen para cualquier otro trasplante de órgano sólido. Estas contraindicaciones pueden ser absolutas o relativas e incluyen, enfermedades cardio-pulmonares graves, tumores malignos avanzados no subsidiarios de tratamiento curativo, enfermedades sistémicas graves incurables, enfermedades congénitas con malformaciones graves e incompatibles con la vida, enfermedades degenerativas o neurológicas graves, infecciones sistémicas graves o no controlables en el momento del trasplante, inmunodeficiencias graves o enfermedades auto-inmunes, etc. El antecedente remoto de una enfermedad tumoral maligna tratada y controlada, la presencia de un tumor estromal (GIST) o un tumor desmoide, así como la presencia de una infección intraabdominal activa en el momento de su evaluación, no deben considerarse contraindicaciones absolutas (Tabla 2)

La importante morbilidad y mortalidad asociadas a estos procedimientos hace necesario asegurarse un aumento de la esperanza y una calidad de vida similar a la que tendría el paciente si se encontrase bajo régimen de NPT (10).

Tabla 2. Contraindicaciones del TI

CRITERIOS ABSOLUTOS	CRITERIOS RELATIVOS
<ul style="list-style-type: none"> • Déficit neurológico profundo o progresivo • Enfermedades congénitas o malformaciones graves incompatibles con la vida • Enfermedad extraintestinal grave o incurable • Sepsis activa no controlable en el momento del trasplante • Tumor maligno avanzado o reciente • Problemas psico-sociales graves y no solucionables 	<ul style="list-style-type: none"> • Inmunodeficiencia leve • Drogodependencia • Imposibilidad de asegurar accesos venosos durante los 6 meses siguientes al trasplante • Neoplasias benignas de pronóstico poco claro • Edad superior a 65 años

Recientemente se ha publicado un score (CaMi score) que pretende evaluar el riesgo preoperatorio de un paciente candidato a TI y predecir su supervivencia. Combina factores que intervienen en la supervivencia a corto, medio y largo plazo. Aplicada en un estudio inicial a 20 pacientes sometidos a TI y correlacionada con su evolución se ha demostrado una relación inversamente proporcional entre la supervivencia y el score siendo una nueva herramienta para predecir la supervivencia del paciente (45).

SELECCIÓN DEL RECEPTOR:

La evaluación de los receptores debe ser multidisciplinar, atendiendo a los siguientes puntos:

1. Irreversibilidad del FI
2. Presencia de enfermedad hepática
3. Disponibilidad de accesos vasculares
4. Condiciones psico-sociales y ambiente familiar del receptor
5. Contraindicaciones potenciales para el trasplante

Los protocolos de evaluación preoperatoria utilizados por los distintos grupos son similares, adaptándose los del Hospital a los ya existentes (Tabla 3).

Lo primero a estudiar es la enfermedad o circunstancia desencadenante del FI irreversible, la extensión y alcance de la misma, así como la presencia de afectación extraintestinal. Los estudios radiológicos permiten valorar la anatomía y funcionalidad del intestino remanente. El tránsito baritado gastrointestinal aporta información acerca del vaciamiento gástrico, motilidad gastrointestinal y longitud del intestino. Los estudios endoscópicos permiten determinar la presencia de patología orgánica asociada en el tracto digestivo. La valoración de la absorción de D-xilosa o la determinación de los niveles de grasa en heces informa de la capacidad de adaptación del intestino remanente en un paciente sometido a régimen de NP.

El estudio del estado nutricional incluye una anamnesis y exploración física detallada, cálculo del índice de masa corporal (IMC) y estudios analíticos para valorar el estado nutricional y las funciones hepática y renal. Ante la sospecha de afectación hepática, el estudio se debe completar con ecografía y biopsia.

La evaluación vascular debe cumplir dos objetivos. Por un lado debe determinar el estado de los accesos venosos centrales y garantizar al menos dos disponibles. Por otro debe evaluar el estado de las estructuras vasculares con las que se va a realizar la reconstrucción vascular del injerto. Mediante estudios ecográficos y angiográficos (arteriografía selectiva, angio-TAC o angio-RM) se debe conocer el estado del eje espleno-mesentérico-portal, aorta abdominal, AMS y VCI.

El estudio infeccioso incluye cultivos de sangre, orina y heces y determinación serológica de virus hepatotropos (VHB, VHC), citomegalovirus (CMV), virus de Epstein-Barr (VEB), herpes zoster, virus de inmunodeficiencia humana (VIH), varicela, sarampión, paperas, rubéola y sífilis (VDRL).

Estudios de histocompatibilidad (grupo ABO, Rh, tipaje HLA, anticuerpos citotóxicos anti-HLA y prueba cruzada) y otras determinaciones encaminadas a buscar estados de hipercoagulabilidad en los enfermos con historia previa de trombosis también son requeridos.

La valoración del riesgo quirúrgico debe ser completada por el estudio de otros especialistas (cardiólogos, neumólogos, psiquiatras, nutricionistas...).

Una vez realizado todos estos estudios un comité médico multidisciplinar evalúa el caso. Si el paciente se acepta como candidato a trasplante pasa a la lista de espera. Tanto los pacientes

aceptados como los rechazados deben ser seguidos por el grupo médico de la unidad de trasplantes.

Tabla 3. Evaluación del receptor.

H³C y EF: Etiología del FI, intervenciones previas, anomalías asociadas.
LABORATORIO: Coulter, perfil hepatorenal, coagulación, análisis de orina, marcadores tumorales
ESTADO NUTRICIONAL: Peso, talla, pliegue tricípital. Albúmina, prealbúmina, transferina. Aminácidos, triglicéridos, vitamina A, B, D, E, tiamina
RADIOLOGÍA Y ECOGRAFÍA: Rx tórax, TAC torazo-abdomino-pélvico, Ecografía hepática, angio-RM
OTROS ESTUDIOS: Tránsito intestinal, enema opaco, endoscopia oral, colonoscopia Estudios de absorción (D-xilosa, grasa en heces)
ESTUDIOS INMUNOLÓGICOS: Grupo ABO, tiraje tisular, pruebas cruzadas
ESTUDIOS MICROBIOLÓGICOS: Cultivos bacterianos, fúngicos, virales. Serología
BIOPSIA HEPÁTICA

SELECCIÓN DEL DONANTE:

Según la Ley Española de Trasplantes (ley 30/1979) considera el consentimiento presunto a la donación de órganos de todos los ciudadanos españoles cuando fallecen siempre y cuando no hayan dejado constancia expresa de su oposición a la donación de órganos. Casi todos los cadáveres con muerte cerebral se consideran aptos para la realización de una extracción multiorgánica: hígado, riñones, corazón y pulmones, a la que pueden sumarse la de páncreas e intestino. Sin embargo debido a la sensibilidad a la isquemia de este último los injertos intestinales suelen provenir de donantes muy seleccionados.

Según los datos publicado en 2009 por la Organ Procurement and Transplantation Network (OPTN)/Scientific Registry of Transplant Recipients (SRTR) Annual, los criterios que debe cumplir el donante para TI son (46-47):

- Edad igual o inferior a 50 años.
- Uso de otros órganos (0-2 años: cualquier órgano; 2-50 años: hígado)
- AST y ALT < 500
- Na < 170mEq/L

- Cr < 1.0 mg/dl en menores de 1 año y < 2.0 mg/dl para mayores
- Serología negativa: VIH, VHB (HBcAb, HBsAg), VHC y HTLV
- Uso de dos o menos drogas ionotrópicas.
- Parada cardíaca inferior a 15 minutos y donación tras muerte encefálica.

La positividad para CMV ha dejado de ser una contraindicación. En lo posible, se continúan eligiendo donantes en los que haya sido posible optimizar el mantenimiento, que tengan valores bioquímicos de función hepática dentro de los valores normales o con tendencia a normalizarse y en los que se haya podido estabilizar su situación hemodinámica con bajas dosis de inotrópicos.

A diferencia con otros trasplantes, la valoración antropométrica del donante también debe considerarse a la hora realizar la selección. Se recomienda que las medidas del donante sean entre un 25 y 50% menores que las del receptor, ya que el uso de donantes mayores puede dificultar el cierre de la cavidad abdominal. En los casos de trasplante intestinal aislado se puede recurrir a la cirugía para la reducción del injerto (48). El antecedente de parada cardíaca en un donante no debe excluir de forma sistemática el uso del intestino para trasplante (49).

La mayor parte de los centros trasplantadores de intestino seleccionan donantes jóvenes en muerte encefálica, estables hemodinamicamente, sin episodios previos de parada cardiorrespiratoria (PCR), sin episodios prolongados de hipotensión arterial (TAS < 80 mmHg), y si la hubo, que no fuera duradera (< 10 minutos), bien oxigenados (PaO₂ > 95 mmHg), y por último, sin grandes aportes de drogas vaso activas (DVA) (Tabla 4).

Es fundamental el correcto mantenimiento del donante para la preservación de los órganos. Para ello es necesario mantener la estabilidad hemodinámica (TAS mínima de 90 mmHg) y respiratoria (Sat O₂ > 95% y PCO₂ 40-45 mmHg). Para conseguirlo se administran soluciones coloides, hemoderivados y cristaloides. En casos de inestabilidad hemodinámica persistente se recurre a DVA. La hipotermia debe evitarse no administrando soluciones líquidas frías, manteniendo la temperatura ambiental y/o calentando la superficie corporal.

Tabla 4. Criterios de selección de donantes para TI.

<u>Criterios de aceptación</u>
<ul style="list-style-type: none"> • Edad < 40 años (máximo: 45 años) • Peso entre un 50-60% menor del tamaño del receptor • Ausencia de: <ul style="list-style-type: none"> Estancia en UVI > 7 días Inestabilidad hemodinámica Parada cardíaca Hipotensión prolongada (TAS < 80 mmHg >10 minutos) Hipoxemia (PaO₂<95 mmHg con FiO₂ del 100% y PEEP=5) Drogas vaso activas a altas dosis Diuresis < 100 cm³/h Diabetes tipo 1 ó 2 del donante (para TMV) Diabetes tipo 1 en familiares de primer grado (para TMV) Pancreatitis crónica (para TMV) Traumatismo abdominal actual con contaminación bacteriana Enfermedad tumoral (excepto piel y cerebro) Infecciones: sepsis, tuberculosis, hepatitis, SIDA, sífilis Preferentemente negatividad para el CMV Drogadicción i.v. • Isquemia fría < 9 horas (preferentemente < 7 horas)

MODALIDADES DE TRASPLANTE INTESTINAL:

R. Lillehei fue el encargado de desarrollar el modelo de TI en perros que estableció las bases del TI en humanos (11). Se describen tres formas principales de TI en clínica humana: trasplante de intestino aislado, trasplante combinado de hígado e intestino y trasplante multivisceral (13,23, 50). El tipo de injerto necesario para cada paciente va a depender de la enfermedad de base que posea el receptor, así como de las características anatómicas y funcionales de los órganos residuales. Todas ellas se basan en el principio de Starzl del *cluster* o racimo, que considera las vísceras abdominales como un racimo que depende de dos ramas principales, el tronco celíaco y la arteria mesentérica superior, y en consecuencia, se puede extraer cualquier parte de este racimo y crear cualquier tipo de injerto siempre que tenga un pedículo que garantice un reflujo arterial y un drenaje venoso adecuados (51).

Trasplante de intestino aislado (TIA): Este tipo de trasplante presenta a su vez dos variantes: el trasplante con drenaje venoso mesentérico o con drenaje sistémico según el territorio venoso al que pueda hacerse drenar la vena mesentérica superior del injerto. En aquellos receptores que cuentan con dominio abdominal (ej. pacientes portadores de pseudoobstrucción crónica intestinal) el implante se realiza sobre los vasos mesentéricos. Este

procedimiento es el más fisiológico ya que conserva el pasaje hepático, pero el 80% de los potenciales receptores son pacientes con SIC, motivo por el cual no será posible proceder con el implante propuesto previamente. En estos casos, una vez completa la enterectomía del intestino insuficiente residual, se procede a exponer la arteria aorta y la vena cava infra renal, donde se colocan injertos de interposición libres utilizando la arteria y la vena iliaca cadavérica del mismo donante para luego sobre ellos implantar los vasos mesentéricos del injerto (Figura 4). Finalizadas las anastomosis vasculares se procede a revascularizar el injerto drenando aproximadamente 150 cc de sangre a través de la anastomosis venosa para devolver el flujo intestinal al sistema vascular del receptor. El restablecimiento de la continuidad intestinal se inicia colocando un tubo de gastro-yeyunostomía para luego realizar la anastomosis proximal yeyuno-yeyunal, y finalmente realizar la reconstrucción distal mediante una anastomosis latero-terminal íleo-cólica, aproximadamente a 20 cm proximal al extremo del íleon, el cual se exteriorizará mediante una ileostomía terminal necesaria para la monitorización del injerto con íleoscopias y biopsias de protocolo.

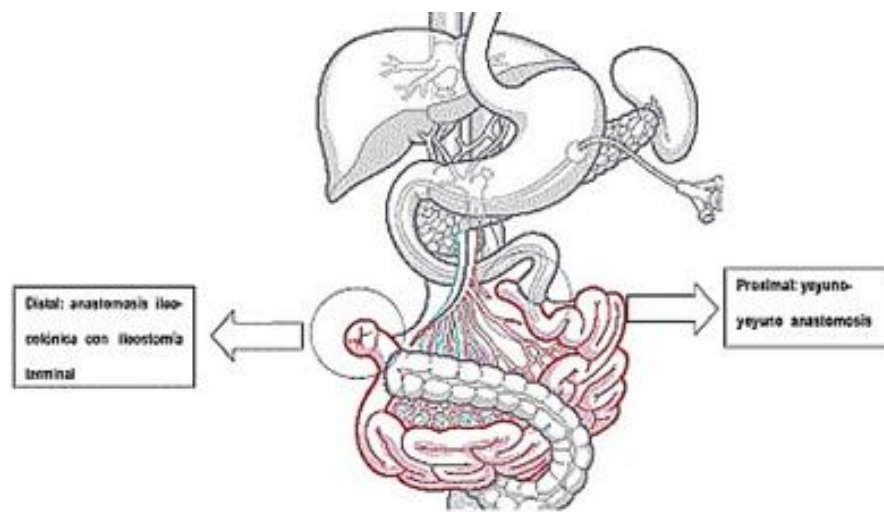


Figura 4. Modalidad TIA. Imagen reproducida con el permiso expreso del Dr. Gabriel E Gondolesi (52).

Trasplante combinado hepato-intestinal (THI): Está indicado en aquellos pacientes con FI que han desarrollado además cirrosis hepática asociada a la NPT. El procedimiento combina la hepatectomía con preservación de la vena cava como se hace en el trasplante hepático y la enterectomía descrita para el TIA. Cuando el procedimiento se hace en bloque, se debe agregar un paso que consiste en la confección de un shunt porto-cava término-lateral o

término-terminal a la vena cava infra hepática del hígado del donante, para asegurar el drenaje venoso del estómago, el duodeno-páncreas y el bazo nativos. Esta técnica ha sido denominada procedimiento de Omaha por haber sido los cirujanos de ese programa de trasplante los que la describieron originalmente (53). En los pacientes adultos se puede realizar el trasplante en forma no compuesta, es decir: el hígado se implanta como si fuese un trasplante hepático clásico, no siendo necesario la confección del shunt porto-cava; y el injerto intestinal se implanta como un TIA (Figura 5). La ventaja de este procedimiento sobre el injerto compuesto es que optimiza la utilización de órganos de un mismo donante ya que el páncreas puede ser usado en otro receptor adulto. Además, para el receptor, ante la posible pérdida del injerto intestinal por rechazo, la enterectomía será simple y el paciente podrá ser re-trasplantado con un nuevo injerto aislado. Cuando esta situación se da en un injerto compuesto esta alternativa es menos viable, ya que la enterectomía disminuye significativamente el flujo hepático.

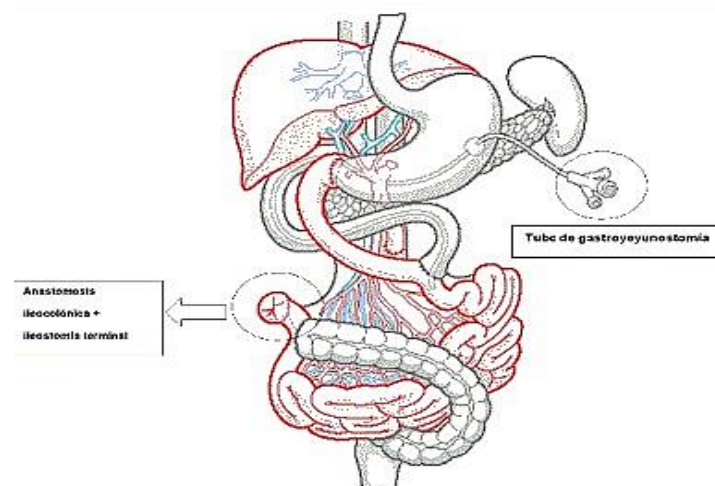


Figura 5. TI Combinado Hepato-Intestinal. Imagen reproducida con el permiso expreso del Dr. Gabriel E Gondolesi (52).

Trasplante multivisceral (TMV): Esta denominación ha sido utilizada clásicamente para la variante de trasplante que incluye estómago-duodeno-páncreas-yeyuno-íleon e hígado en bloque. Este procedimiento es el llamado clásico para diferenciarlo de aquel en el que el hígado no es utilizado por lo que se lo ha denominado: “multivisceral modificado”. La diferencia con el trasplante combinado radica en que durante la excenteración abdominal, se remueven también el estómago, el duodeno-páncreas y el bazo por lo que no se debe realizar

el shunt porto-cava para asegurar el drenaje venoso. El implante se realiza en bloque con una primera anastomosis venosa entre la vena cava supra hepática del donante y el ostium común de las 3 venas supra hepáticas del receptor, para luego implantar el conducto arterial de la aorta del donante a la aorta infra renal del receptor. La continuidad intestinal se restablece luego de la reperfusión del injerto mediante la realización de una anastomosis esófago-gástrica seguida de piloromiotomía y piloroplastia, posteriormente y como en los otros trasplantes descritos se realiza la colocación del tubo de gastro-yeyunostomía, y distalmente la anastomosis íleo-colónica con ileostomía en chimenea (Figura 6).

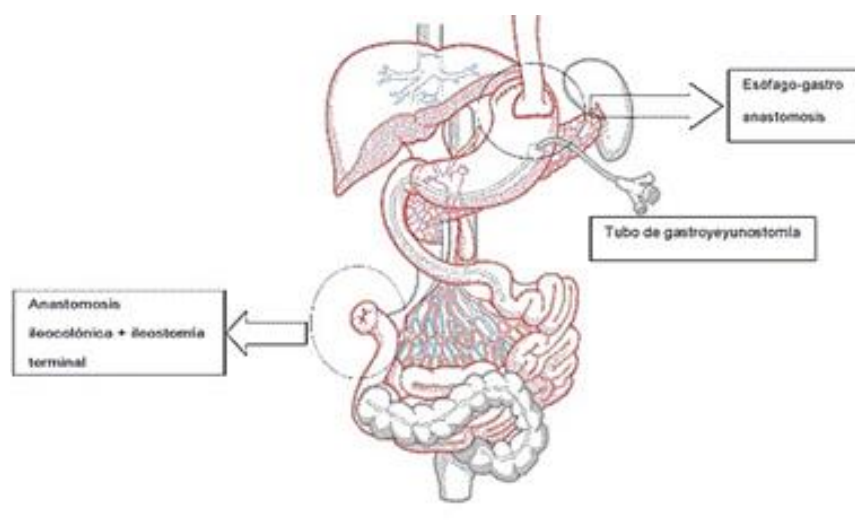


Figura 6. TMV. Imagen reproducida con el permiso expreso del Dr. Gabriel E Gondolesi (52).

En los últimos años, las técnicas originales han sido modificadas con la intención de paliar la escasez de donantes adecuados. La estancia en la lista de espera puede ser muy prolongada, condicionando una progresión en el deterioro físico y nutricional del paciente. Se han desarrollado por tanto nuevas estrategias y técnicas quirúrgicas con la finalidad incrementar la probabilidad de acceso al trasplante de este grupo de pacientes:

Reducción combinada del bloque hígado-intestino: Similar las técnicas de reducción en trasplante hepático, esta técnica permite utilizar donantes de un peso hasta 4 veces superior al del receptor en casos de trasplante combinado de hígado-intestino. La reducción hepática es extrahiliar, y si tras la revascularización existe problema de espacio, se puede acompañar de una resección más o menos amplia de intestino medio (54).

Trasplante secuencial de hígado-intestino: En candidatos a THI. Se puede hacer de forma asincrónica o sincrónica. En la primera se trasplanta el hígado, y semanas después el intestino, una vez normalizada la función hepática y mejorada la desnutrición secundaria a la hepatopatía. En la segunda modalidad, en un mismo acto quirúrgico se trasplantan por separado ambos órganos, hígado e intestino. Esta técnica permite utilizar donantes con una desproporción de peso muy superior (hasta 10 veces), permite la resección del injerto intestinal en caso de rechazo del mismo, conservando el hígado, y abre la posibilidad técnica al trasplante de hígado-intestino con injertos de donante vivo (55).

Injerto intestinal de donante vivo: el uso de injertos de donante vivo se ha desarrollado con éxito en el trasplante renal, hepático, pancreático y pulmonar. Recientemente se ha comenzado a aplicar al caso del intestino, con el propósito de expandir el número de donantes disponibles, así como para evitar la progresión de la hepatopatía de los pacientes en lista para trasplante intestinal. El injerto consiste en un segmento de unos 150 cm aproximadamente de íleon, siempre que la resección sea inferior al 40% de la longitud total de intestino del donante, y conservando un mínimo de 20 cm de íleon terminal. Hasta el momento, existen documentados un total de 30 trasplantes intestinales con injerto de donante vivo, con unos resultados similares, e incluso superiores a los de donante cadavérico, dada la hipotética ventaja inmunológica por haploidencia en el caso de utilizar donantes relacionados (56).

EXTRACCIÓN DE INJERTOS (CIRUGÍA *IN SITU*):

En España dicha actividad está regulada a través del *Real Decreto de 2070/1999, de 30 de diciembre, por el que se regulan las actividades de obtención y utilización clínica de órganos humanos y la coordinación territorial en materia de donación y trasplante de órganos y tejidos* (57). El objetivo que persigue la extracción es conseguir un órgano viable sin lesionarlo y preservarlo hasta su implante.

El proceso de extracción multiorgánica en el donante cadáver mantenido hemodinámicamente conlleva la actuación y coordinación de varias disciplinas quirúrgicas que deben intervenir de forma simultánea sin afectar a la viabilidad de los diferentes órganos a extraer.

En el caso de un donante "ideal" del cual pueden obtenerse todos los órganos hoy en día trasplantables, se requiere la actuación de los siguientes equipos quirúrgicos:

- Cirugía cardíaca: Un cirujano, un ayudante y un perfusionista/instrumentista.

- Cirugía Torácica: Un cirujano, un ayudante y un perfusionista.
- Equipo de extracción hepática: un cirujano, dos ayudantes y un perfusionista.
- Equipo de extracción renal: un cirujano, un ayudante, un perfusionista.
- Cirujanos extractores de otros tejidos (piel, huesos, válvulas cardiacas, córneas)
- Anestesista (del centro extractor).

El donante cadáver puede encontrarse en situación de:

- Parada cardiaca (donante a corazón parado): requiere una técnica similar en sus fundamentos a la de la extracción rápida.
- Mantenido hemodinámicamente (donante a corazón latiente): este puede encontrarse en dos situaciones hemodinámicas:
 - Estable: permite la disección, canulación, perfusión y extracción reglada de los órganos (Técnica clásica de extracción multiorgánica; Starzl, 1984) (Figura 7) (58-59).
 - Inestable con peligro de parada cardiaca: obliga a realizar técnicas de extracción rápidas, sin apenas disección de los órganos a extraer, siendo su objetivo la obtención del máximo de órganos posibles. Básicamente consiste en la canulación y perfusión de los órganos; posteriormente se procede a la disección y extracción de los mismos (Técnica de extracción rápida; Starzl, 1987) (60).

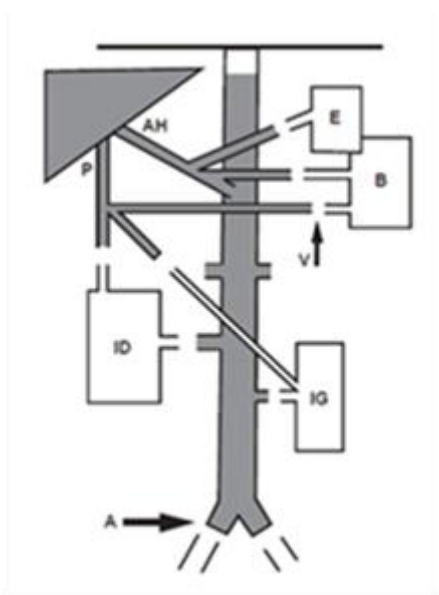


Figura 7 Esquema de la técnica de extracción multiorgánica clásica, donde la disección y extracción de los órganos se hace por separado. Las flechas indican los sitios de canulación y perfusión. (aórtica y portal). Reproducción autorizada por el Dr. Gala-López (59)

En el caso de la extracción de órganos abdominales tras abrir el peritoneo y entrar en la cavidad peritoneal se comprueba el aspecto, tacto y funcionalidad de los órganos a extraer, así como de sus pedículos vasculares. Se revisan descartando patologías de los mismos o de otros órganos que pudieran contraindicar la extracción (como neoplasias no conocidas). Una vez realizado el examen se disecciona la arteria aorta (AA) a dos niveles: por encima de su bifurcación en arterias ilíacas (donde se insertará la cánula de perfusión) y en el hiato diafragmático en su entrada a la cavidad abdominal (donde se colocará una ligadura o clamp). Para ello se moviliza todo el paquete intestinal (maniobra de Catell) dejando al descubierto la vena cava inferior y aorta inframesocólicas desde la salida de la vena renal izquierda hasta su bifurcación en vasos ilíacos. Ambas (aorta y cava inferior) se disecan y se dejan listas para su posterior canulación. La arteria mesentérica inferior (AMI) se liga y secciona nada más salir de la aorta, con el fin de evitar la pérdida de líquido de preservación hacia el intestino grueso. Con estas maniobras se prepara al donante para poder efectuar una canulación y perfusión rápida de todos los órganos abdominales en caso necesario (por inestabilidad con hipotensión severa no remontable o parada cardíaca). A continuación se disecciona la vena mesentérica superior (VMS) a nivel retropancreático, justo en su entrada en el proceso uncinado pancreático y se deja referenciada; por ella se pasará una cánula que permita llegar hasta la vena porta. El hígado necesita aporte de sangre portal y arterial, por lo que la solución de preservación le debe llegar a través de la arteria hepática (vía aorta abdominal) y por la vena porta (vía vena mesentérica superior, inferior o esplénica- eje venoso esplenoportal). Posteriormente se disecan los elementos del pedículo hepático (colédoco, arteria hepática y vena porta). Llegados a este momento es necesario heparinizar al donante y realizar la canulación de la aorta abdominal infrarrenal (AAIR), VMS y VCI infrarrenal. Posteriormente se realiza la secuencia de clampaje / perfusión-hipotermia / exanguinación: en la que se clampa la aorta a nivel del hiato diafragmático y simultáneamente se abren las cánulas de perfusión: aorta infrarrenal para hígado, riñones, páncreas e intestino delgado y VP para hígado. La perfusión se realiza con 2000cc de la solución de preservación de Belzer de la Universidad de Wisconsin (UW) a 4°C y a una presión hidrostática de 1-1,5 metros. En el caso de haberse colocado una cánula en la cava inferior infrarrenal, se abrirá para exanguinar los órganos abdominales, sino, el drenaje se efectúa por la VCI. La sangre y el líquido de perfusión se recogen con aspiradores. Se rellenan las cavidades pleuropulmonar y abdominal con suero fisiológico frío y hielo picado favoreciendo un enfriamiento más rápido de los órganos (hipotermia tópica). Una vez comprobada la correcta perfusión y enfriamiento de cada

órgano se procede a su extracción del cadáver. El cadáver sigue ventilado hasta que se completa la extracción pulmonar, pero se suspende cualquier otro soporte cardiocirculatorio. El orden de extracción depende del grado de tolerancia a la isquemia de cada órgano. En el caso del ID el injerto obtenido abarca desde el ángulo de Treitz, hasta el íleon terminal y debe incluir parche aórtico de la AMS.

La denominada **técnica de extracción en bloque** es una variante de la técnica de extracción rápida (Figura 8) (61). Tras la inspección de los órganos, se disecciona la aorta y la arteria pulmonar en el tórax y la AA y VMS (o inferior o esplénica) como en la extracción clásica. No se diseccionan más estructuras y la canulación, heparinización, clampaje-perfusión-exanguinación siguen los mismos principios que los descritos en la técnica clásica. En el abdomen la técnica consiste en reseca en bloque la aorta y la cava inferior desde el diafragma hasta la porción infrarrenal de estos vasos (por encima de la cánula de perfusión) así como los órganos con los órganos que nutren o drenan. Se secciona el esófago abdominal y el yeyuno a nivel del ángulo de Treitz y se moviliza todo el ID y grueso dejando el espacio retroperitoneal a la vista. El bloque incluye el esófago abdominal, duodeno hasta el ángulo de Treitz, el páncreas, el hígado y ambos riñones con sus uréteres seccionados a nivel de su entrada en vejiga, todos ellos con sus arterias y venas. El plano de despegamiento del bloque es entre los cuerpos vertebrales y los grandes vasos (cava y aorta). Posteriormente serán separados mediante la cirugía de banco.

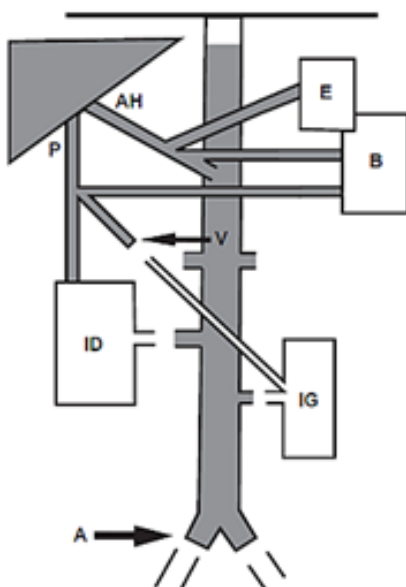


Figura 8. Técnica de evisceración abdominal total, donde la disección y extracción de los órganos se hace en bloque. Las flechas indican los sitios de canulación y perfusión (aórticas y portal). Reproducción autorizada por el Dr. Gala-López (59)

CIRUGÍA DE BANCO (CIRUGÍA *EX SITU*):

Una vez extraídos los órganos del cadáver se conservan inmersos en líquido organoespecífico a una temperatura de 4°C. El órgano a implantar es preparado para que en el momento de su colocación (fase de isquemia caliente) se anastomosen las estructuras en el mínimo tiempo posible.

Esta debe realizarse en el hospital donde se realizará el trasplante. En el caso de un injerto intestinal aislado, la preparación en el banco es escasa. Si los vasos mesentéricos son cortos, se pueden utilizar injertos vasculares que se anastomosarán en este momento. Si la extracción se realizó en bloque, y van a utilizarse los órganos por separado en distintos receptores, hay que separarlos:

- **Injerto yeyuno-ileal aislado:** todo el ID debe ser movilizado y realizar una colectomía total (siempre y cuando no se vaya a utilizar el colon como parte del injerto yeyuno-ileal), seccionando y cerrando el íleon terminal a nivel de la válvula ileocecal (VIC). Se secciona y cierra el primer asa yeyunal a nivel del ángulo duodeno-yeyunal (ligamento de Treitz), ligando todas las pequeñas ramas de la AMS y de la VMS.

- **Injerto hepato-intestinal:** la técnica clásica incluye una duodenopancreatectomía cefálica con reconstrucción posterior de la vía biliar. Debido a las complicaciones que pueden derivarse en el receptor, actualmente se utiliza la técnica modificada de Ohama (53). Esta consiste en la movilización del hígado seguida del cierre duodenal inmediatamente distal al píloro. La vía biliar no se toca y permanece intacta, así como el resto del ligamento hepato-duodenal. Se disecciona el área duodeno-céfalo-pancreática separándola del retroperitoneo y se moviliza el resto de la glándula pancreática, para posteriormente seccionarla a nivel de su unión corporo-cefálica y realizar una esplenopancreatectomía subtotal. La preparación del injerto yeyuno-ileal, no difiere de la técnica comentada en el apartado anterior. El flujo arterial de este injerto proviene a través de un segmento de AA que incluye el tronco celíaco (TC) y la salida de la AMS, y el drenaje venoso se lleva a cabo por un sistema mesentérico-portal íntegro, a través de las venas suprahepáticas (VCSH) del hígado donante sobre la vena cava (VC) del receptor.

- **Injerto MVC:** El procedimiento de extracción es similar al descrito para el injerto hepato-intestinal. La diferencia radica en que no es necesaria realizar la pancreatectomía. Se moviliza

por completo la glándula para incluirla como parte del injerto. La sección digestiva proximal se lleva a cabo a nivel del esófago torácico del donante si se incluye el estómago en el injerto.

Soluciones de preservación de órganos:

El mantenimiento de la viabilidad de los órganos desde su extracción hasta el trasplante es un factor crucial para la adecuada función y la supervivencia del injerto. El daño de los órganos ocurre principalmente como resultado de la lesión por isquemia-reperfusión, en relación con las lesiones derivadas de la propia preservación. Para minimizar este daño se usan diferentes técnicas de preservación de los órganos, cuyo objetivo es optimizar la función del órgano una vez que se restablezca la perfusión. La extracción, el almacenamiento y el trasplante de un órgano sólido de un donante alteran significativamente la homeostasis del medio interno del órgano y sus efectos se manifestarán en el grado en que recupere o no su función tras el trasplante. El daño de los órganos durante el trasplante ocurre en dos fases. La primera, denominada **fase de isquemia caliente**, incluye el tiempo que pasa desde la interrupción de la circulación del órgano donado hasta el momento en que es perfundido con la solución hipotérmica de preservación. La segunda fase llamada **fase de isquemia fría**, es el período que transcurre desde que el órgano es preservado en un estado hipotérmico hasta su trasplante en el receptor.

De acuerdo con los mecanismos implicados en la fisiopatología del daño por isquemia-reperfusión los principios que deben cumplir las soluciones de preservación para tratar de evitar dicha lesión son los siguientes (62):

1. Minimizar el edema celular asociado a la isquemia y la hipotermia mediante la utilización de líquidos hipertónicos (composición similar al compartimento intracelular) y la adición de sustancias impermeables para la célula.
2. Prevenir la acidosis intracelular ya que ocasiona daño celular al producir un fracaso de las membranas celulares e inducir edema celular.
3. Disminuir la entrada de calcio al interior de la célula durante la reperfusión ya que activa las fosfolipasas que atacan la membrana celular.
4. Prevenir la expansión del espacio intersticial durante la reperfusión

5. Prevenir el daño inducido por los radicales libres de oxígeno durante la reperfusión, mediante la adición de sustancias scavenger (barrendero).

6. Aportar precursores de ATP, ya que la reperfusión orgánica requiere la regeneración rápida de la bomba de Na que necesita ATP.

Son diversas las soluciones que se utilizan para la preservación de órganos. Aunque cada una de ellas difiere sustancialmente en su composición, sus objetivos son los mismos: prevenir el edema celular, retrasar la destrucción celular y maximizar la función del órgano una vez que se restablezca la perfusión. Las soluciones de preservación multiorgánica que más se utilizan en el ámbito clínico son:

- Solución de Eurocollins: Solución de tipo intracelular, ligeramente hiperosmótica, contiene altas concentraciones de potasio, fosfato que actúa como tampón, y glucosa como agente osmótico. Esta solución es válida en la preservación de corazón, hígado y pulmón.

- Solución de la Universidad de Wisconsin: Diseñada a principios de los años ochenta por Belzer. Esta solución tiene una composición electrolítica de tipo intracelular, sin glucosa y con impermeabilizantes no metabolizables, como el lactobionato y la rafinosa. La solución también contiene fosfato y sulfato como tampones, adenosina como precursor para la síntesis de ATP, y un coloide estable y efectivo para aportar presión coloidosmótica, el hidroxietil-almidón. Por último, se añaden sustancias con actividad antioxidante (glutatión, alopurinol) y citoprotectores (magnesio, dexametasona e insulina). En la actualidad, se considera como la solución de preservación de referencia para riñón, hígado, páncreas e intestino delgado (63).

- Custodiol o solución HTK: Es una solución de tipo intracelular, prácticamente exenta de calcio y con concentraciones de sodio muy bajas. Como sustancias impermeabilizantes incorpora manitol e histidina. Esta última, combinada con clorhidrato de histidina, actúa como sustancia tampón. También se añade triptófano y ketoglutarato, que son protectores de la membrana celular. El Custodiol ha mostrado su eficacia en la preservación cardíaca, ya que permite alargar la isquemia fría.

- Solución Celsior: Diseñada en 1994, tiene una formulación de tipo extracelular que combina el efecto de los sustratos metabólicos inertes de la solución de Belzer (lacto-bionato, manitol) y el de actividad tampón de la solución HTK. Tiene un bajo contenido en potasio, con lo que

se disminuye la hiperpotasemia tras la reperfusión del órgano, y un alto contenido en magnesio, que previene la sobrecarga celular de calcio. La histidina actúa como tampón y tiene una potente acción scavenger. Al no contener hidroxietil almidón, su viscosidad es muy baja. En los últimos años, ha mostrado buenos resultados en preservación cardíaca, pulmonar, hepática, pancreática, renal y de intestino delgado.

En el mantenimiento del injerto intestinal hay que tener en cuenta que se trata de un órgano extremadamente sensible a la isquemia, durante esta se produce una alteración en el funcionamiento de las uniones intercelulares con incremento de la permeabilidad e intercambio de fluidos entre la luz y la pared intestinal. Estas alteraciones ocurren en el transcurso de minutos desde la privación de oxígeno, y se hacen más evidentes en situaciones de bajo flujo, como ocurre durante episodios de hipotensión y shock, dando lugar a un importante déficit de oxígeno en las vellosidades, hecho que facilita el fenómeno de traslocación bacteriana y el inicio del fracaso multiorgánico (FMO). Por tanto el objetivo fundamental de la preservación es mantener la integridad de la barrera intestinal. El intestino se preserva usualmente con la solución UW, aunque la HTK y la Celsior han mostrado también buenos resultados (64).

CAMBIOS DE PRESERVACIÓN:

La mucosa intestinal es muy sensible a la isquemia (65), produciéndose cambios en la permeabilidad como en la morfología con periodos de isquemia iguales o mayores a 20 minutos. Pero no sólo la interrupción del flujo sanguíneo produce lesión. La reperfusión tras un periodo de isquemia fría o caliente también la genera (66). En modelos experimentales se ha realizado el estudio histológico de mucosas intestinales de ratas y perros sometidos trasplantes intestinales con varios periodos de isquemia. Los cambios descritos en la mucosa han seguido un espectro cuyos extremos son la mucosa sin lesiones y la isquemia transmural. En el medio, las lesiones descritas están relacionadas con la aparición de un espacio subepitelial en la punta de las vellosidades, primera huella morfológica que la isquemia produce. En grados sucesivos este espacio se amplía hasta originar una completa denudación del epitelio de la vellosidad. En estadios más avanzados se pierde por completo la vellosidad, se lesionan las criptas y se produce una necrosis de toda la mucosa. También se ha estudiado la capacidad de regeneración de la mucosa intestinal, recuperándose las lesiones más superficiales en 6 a 18 horas. Esta regeneración parece realizarse a expensas de la migración

de células de mucosa conservada próxima que recubren el área lesional y no por aumento en la actividad mitótica (67-69). El daño por isquemia-reperfusión produce la pérdida de la barrera que supone la mucosa intestinal, permitiendo la traslocación bacteriana y las consecuentes complicaciones sépticas. También parece asociarse con un aumento en el desarrollo de RA y disfunción del injerto. Las actuales hipótesis postulan que el ambiente proinflamatorio que puede darse en esta circunstancia aumenta la expresión antigénica y la activación del sistema inmunológico con la posibilidad de producirse rechazo del injerto. La interleucina 6 (IL-6) que es un mediador inflamatorio parece estar implicada en la fisiopatología del daño por isquemia-reperfusión. (70).

Por tanto es necesario conocer las lesiones producidas en la mucosa del injerto por su resección, conservación e implante para poder evaluar las inmediatas subsiguientes biopsias protocolizadas en la evolución del injerto. La mayoría de los estudios realizados han sido en modelos experimentales de animales. En 1994 Nakamura et al. publicó las características de la lesión por isquemia-reperfusión y su aplicación en la valoración del curso post-trasplante en su serie de pacientes. El edema y congestión de la lámina propia, la denudación del epitelio, el acortamiento en la longitud de las vellosidades y la marginación neutrofilica en las venas son los principales hallazgos histológicos encontrados. La severidad de estos cambios parece relacionarse con el tiempo de isquemia fría del injerto (71). En cuanto a la graduación de estas lesiones, no hay consenso establecido, teniendo cada grupo sus propios sistemas. Quaedackers et al. intentó indicar dentro de las múltiples formas de graduación que existen publicadas en la literatura, cual es la que mejor y la que más se acerca a un sistema cualitativo y cuantitativo. Concluyen que el sistema ideal es aquel que combina los hallazgos morfológicos/histológicos con la gravedad del daño, de leve a severo. A este efecto una combinación de las clasificaciones de Park y Chiu son las que más se acercan a este objetivo. Los hallazgos evaluados en este sistema se muestran en la tabla 5. En el estudio la evaluación del daño intestinal en los dos grupos experimentales por dos observadores independientes usando las distintos sistemas seleccionados demostró que el sistema Prak/Chui tenía el mejor índice de correlación ($r^2=0.86$) (72)

También se ha intentado estudiar que regiones del intestino son más sensibles a la isquemia, no lográndose identificar diferencias relevantes entre las distintas regiones topográficas del intestino (73). El siguiente paso es conseguir sustancias que puedan emplearse y que protejan frente a estos cambios. En dos estudios recientes se ha empleado remifentanilo (opioide) y

una clase nueva de hidrazona (guanilhidrazona CPSI-2364) que bloquea a los macrófagos de la lámina propia intestinal y reduce la inflamación. La idea es conseguir fármacos que beneficien a los pacientes. (74-75).

Tabla 5. Descripción del sistema de graduación de la lesión por isquemia-reperfusión de Chui/Park. Según Quaedackers et al. (71)

Chiu

0. Mucosa normal
1. Espacio subepitelial en las puntas de las vellosidades
2. Expansión del espacio subepitelial con moderado alargamiento.
3. Levantamiento masivo del epitelio. Algunas puntas denudadas.
4. Vellosidades denudadas, capilares dilatados.
5. Disintegración de la lámina propia

Park

6. Lesión en criptas
7. Infarto mucoso/submucoso
8. Infarto transmural

TÉCNICA DE IMPLANTE (CIRUGÍA EN EL RECEPTOR):

En el manejo quirúrgico del paciente, lo primero a asegurar son los accesos vasculares. Posteriormente se procede al acceso quirúrgico y exposición del campo quirúrgico. Generalmente con una laparotomía media xifo-pubiana es suficiente, aunque se pueden requerir prolongaciones transversas, sobre todo en el caso de THI y TMV para mejor exposición y para llevar a cabo el implante posterior. La mayoría de estos enfermos han presentado intervenciones abdominales previas, siendo necesario realizar adhesiolisis para liberar las adherencias. Una vez realizada la exenteración abdominal se disecan la VCI y la aorta AA en el retroperitoneo, siendo los puntos donde se llevará a cabo el drenaje venoso y la vascularización arterial del injerto. La primera anastomosis vascular en llevarse a cabo es la venosa. Como ya se ha mencionado, ésta puede realizarse sobre la VMS-VP del receptor o sobre la VCI. La anastomosis arterial se realiza a continuación, utilizando la AMS en el caso de un TIA o un segmento de AA con TC y AMS del donante, en el caso de un THI o TMV, sobre la AA del receptor. La reconstrucción biliar, solo es necesaria en el caso del THI, cuando no se utiliza la técnica de Omaha (53) realizándose una anastomosis hepático-yeyunal en Y de Roux. La vesícula biliar del donante se extirpa en todos los casos. La reconstrucción digestiva del injerto se puede realizar bien mediante una duodeno-yeyunostomía latero-lateral a nivel proximal (entre el duodeno-yeyuno del receptor y el yeyuno del donante), o bien mediante una gastro-yeyunostomía (entre el estómago del receptor y el yeyuno del donante), siendo preferible la primera opción por ser más fisiológica. A su vez, se realiza una íleo-colostomía latero-lateral o termino-lateral a nivel distal (entre el íleon del donante y el colon del receptor), en los casos en que se realice en este tiempo. En todos los pacientes debe realizarse una ileostomía, lateral- proximal en los casos en los que se realice una reconstrucción digestiva distal, o terminal si no se lleva a cabo, para la monitorización postoperatoria del injerto. En el caso de los TMV puede realizarse a nivel proximal una esófago-gastrostomía (entre el esófago del receptor y el estómago del donante), una gastro-gastrostomía, o una esófago-yeyunostomía en Y de Roux (entre esófago del receptor y el yeyuno del donante) si no se incluye el estómago en el injerto. La reconstrucción distal es la misma que para el resto de los trasplantes. En estos casos suele ser conveniente realizar una piloroplastia o una piloromiotomía con el fin de facilitar el vaciamiento gástrico tras la denervación vagal. La utilización de gastrostomías o yeyunostomías de alimentación es variable en función de los distintos grupos. Por último, hay que realizar el cierre de la pared

abdominal. En la mayor parte de los pacientes no es posible llevar a cabo el cierre primario, a pesar de ser un objetivo importante, para evitar la aparición de un síndrome compartimental intraabdominal y el daño del injerto. Hay muchos métodos posibles para lograr el cierre, aunque éste no sea definitivo (51). Lo principal es evitar un cierre a tensión, por lo que la utilización de mallas y prótesis de manera temporal es una opción. En otros casos, puede llevarse a cabo el cierre cutáneo exclusivamente. Por último, hay grupos que proponen el trasplante de pared abdominal como otra opción posible (76).

INMUNOSUPRESIÓN:

Se dice que la historia de los trasplantes es la historia de los inmunosupresores. No hay duda de que la necesidad de entender el fenómeno del rechazo para así poder manejar al paciente trasplantado ha supuesto un reto para el campo de la inmunología. Un trasplante o injerto es la transferencia de células vivas, órganos o tejidos de una parte del organismo a otra o de un individuo a otro. Un **alotrasplante** es el que se realiza entre dos individuos diferentes pertenecientes a la misma especie. Cada especie animal posee un conjunto de genes denominado genéricamente Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC), y en el caso de los humanos sistema HLA (del inglés *Human Leukocyte Antigens*) que codifica para una serie de moléculas presentes en la superficie de las células, que son las que determinan en gran parte el grado de compatibilidad. La presencia en los órganos injertados de moléculas HLA distintas a las del receptor (situación de incompatibilidad HLA) provoca en éste el desarrollo de anticuerpos y células T citotóxicas dirigidas frente a dichas moléculas, lo que conduce al rechazo y pérdida de dicho órgano. Para la prevención del rechazo se puede actuar a diferentes niveles. Antes del trasplante, buscando la máxima compatibilidad posible entre el donante y el receptor y después de este con el uso de una terapia inmunosupresora adecuada. El intestino debido a la gran cantidad de tejido linfoide que posee es de los órganos más inmunogénicos que existe, no habiendo sido posible el desarrollo completo de este tipo de trasplante hasta la aparición de fuertes drogas inmunosupresoras.

Muchos han sido los fármacos empleados. En los primeros trasplantes realizados a finales de los 60, los corticoides con azatioprina era la combinación empleada. En 1981 se introdujo la globulina antitimocítica equina (ATG-E), empleándose como terapia de inducción. Dos años más tarde, en 1983 se introduce la ciclosporina A (CSA) como fármaco de mantenimiento y en 1986 el muromonab (OKT3). De los inhibidores de la calcineurina (ICN), concretamente el

tacrolimus, no apareció hasta los 90, siendo el fármaco inmunosupresor que permitiría el despegue definitivo del TI (77).

La terapia inmunosupresora en TI debe ser adecuada a cada paciente, a la monitorización del injerto y al seguimiento de posibles enfermedades infecciosas o procesos linfoproliferativos asociados al trasplante.

Publicaciones recientes pretenden mostrar la utilidad de la **terapia de inducción**. Esta consiste en la administración de anticuerpos antilinfocíticos mono o policlonales en un período corto durante el procedimiento y en el post-trasplante inmediato. Con ello se intenta reducir la respuesta inmune del huésped al injerto, inducir un efecto de condicionamiento en el receptor, deplecionar la carga linfocitaria del mismo y brindar una ventana terapéutica para la introducción progresiva de otros inmunosupresores como el tacrolimus (78-79).

La **terapia de mantenimiento** recomendada es con tacrolimus, la introducción de la terapia de inducción ha permitido pasar del uso de tacrolimus endovenoso (altamente nefrotóxico) para iniciarlo en forma enteral desde el post-trasplante inmediato. Los niveles buscados durante el primer mes post-trasplante son de 15-20 ng/ml para luego ir reduciéndolos hasta niveles de aproximadamente 5 ng/ml al final del primer año. Si bien esta droga ha brindado grandes beneficios al TI, sus efectos adversos deben ser controlados, siendo la disfunción renal progresiva una causa de morbilidad creciente (80). Los corticoides siguen siendo utilizados como parte de la terapia de mantenimiento.

Terapia de inducción y fármacos inductores:

El objetivo de la utilización de un tratamiento de inducción en el TI es disminuir la respuesta inmunológica del huésped al injerto, reducir la dosis de ICN e inducir una hiporrespuesta inmune en el receptor produciendo una depleción tanto central como periférica de toda la serie linfocitaria. Publicaciones recientes de los grupos más importantes de trasplante avalan determinados fármacos inductores como los anti-receptor de la Interleucina 2 (anti IL-2R), los anti-linfocitarios y el anti- CD 52 (81-804). Una gran diversidad de fármacos inductores han sido utilizados, bajo distintos regímenes o protocolos sin que exista uno ideal en el momento actual. A continuación se resumen las características de los más utilizados:

Globulina antitimocítica equina (ATG-E): Es una inmunoglobulina (Ig) procedente del suero equino inmunizado con linfocitos T humanos. Son inmunoglobulinas policlonales

equinas contra los linfocitos humanos. Estas Igs alteran la activación de las células T, la función citotóxica y disminuyen la inmunidad celular y humoral. Después de una dosis de ATG el recuento de linfocitos se reduce en un 85-90%, manteniéndose esta reducción mientras los anticuerpos circulantes se mantienen en concentraciones altas, incluso varios días después de finalizar su administración. El beneficio de la ATG es que evita el RA precoz, pudiendo retrasar la administración de ICN, como la CSA o el tacrolimus. La vía de administración es intravenosa, durante 4 horas, y la dosis habitual es de 15 mg/kg/día durante 10-14 días, iniciándose la primera dosis entre las primeras 24 horas antes o después del trasplante. Como efectos adversos se han descrito: fiebre, escalofríos, trombocitopenia, leucopenia, rash e infección sistémica. Antes de su administración se debe realizar una prueba intradérmica (inyección de 0,1 ml de una dilución de 1:1000 de ATG en suero salino fisiológico): observar cada 15-20 minutos durante 1 hora. Es positiva si se aprecia un eritema o rodete de al menos 10 mm. La reacción alérgica puede presentarse incluso con la prueba intradérmica negativa. Si se presenta una reacción anafiláctica, se debe suspender la ATG y administrar adrenalina (0,3 ml por vía im.) y corticoides.

Globulina antitimocítica de conejo (ATG-R) (Timoglobulina®): El potente efecto inmunosupresor se obtiene por los anticuerpos citotóxicos dirigidos contra los antígenos expresados en los linfocitos T humanos. La depleción de los linfocitos es probablemente el principal mecanismo de inmunosupresión, consiguiéndose por lisis del complemento o por opsonización y subsiguiente fagocitosis por los macrófagos. La ATG de conejo como terapia de inducción es de uso muy extendido entre los grupos de trasplante pancreático y TI. La dosis recomendada es de 5 mg/kg/día, administrada por vía venosa central durante 4-6 horas, dosis que se puede repetir o no, durante los 5-7 primeros días post-trasplante (80). Después de la primera dosis el recuento de linfocitos debe reducirse en un 85%. La vida media del fármaco es de 2-3 días. Los efectos secundarios más frecuentes son: fiebre, trombocitopenia, leucopenia y enfermedad del suero (fiebre, prurito, rash, artralgia, mialgia, linfadenopatía, disminución del complemento sérico). No se recomienda prueba cutánea en el TOS, ya que presenta los mismos riesgos que el tratamiento. La premedicación con corticoides, paracetamol y/o antihistamínicos puede reducir la incidencia e intensidad de los efectos secundarios durante la administración de la timoglobulina. La ATG de conejo es más eficaz que la ATG equina en la reversión del RA.

OKT3 (Muromonab-CD3): Es un anticuerpo monoclonal de origen murino. Su administración produce una depleción rápida de células T (descenso del recuento de linfocitos periféricos y de células circulantes que expresan otros marcadores de células T). Se administra por vía iv. periférica a dosis de 5 mg/día, durante menos de 1 minuto. El tratamiento se mantiene durante 10-14 días. Se debe monitorizar la eventual aparición del síndrome de liberación de citoquinas (fiebre, escalofríos, malestar, náuseas y cefalea). Para evitar la gravedad de este síndrome se administran antihistamínicos, paracetamol y 8 mg/kg de metilprednisolona (MP) 1-4 horas antes del OKT3. Cuando se realiza un sucesivo tratamiento con OKT3, se deben medir los niveles de anticuerpos anti-OKT3. Hoy en día, se utiliza, sobre todo, en casos de rechazo agudo (RA) refractario al tratamiento convencional corticoideo, en casos de RA grave o cuando previamente se han utilizado otros anticuerpos en la inducción, aunque su uso como inductor, es cada vez menos frecuente.

Antagonistas de la IL-2R:

La interleucina 2 (IL-2) regula la expansión clonal de las células T y juega un papel fundamental en la respuesta aloinmune celular por medio de su unión a los receptores de superficie específicos en la activación de los linfocitos T. Los fármacos antagonistas empleados bloquean el CD25, que es la subunidad alfa del receptor de la IL-2, impidiendo así la activación de los linfocitos T. Estos son:

Daclizumab: Es el primer antagonista de la IL-2R desarrollado para uso clínico en trasplante. Se utilizó por primera vez en trasplante renal consiguiendo reducir la tasa de RA. La dosis es de 2 mg/kg por vía iv, durante el trasplante, y posteriormente cada 14 días hasta completar 6 dosis, para pasar a otras 6 dosis más de 1 mg/kg, cada 14 días (81-82).

Basiliximab: Es un anticuerpo recombinante, monoclonal quimérico (humano y murino). Una dosis de 20 mg, se diluye en 50 ml de salino o dextrosa y se administra por vía iv periférica durante 20-30 minutos, repitiéndose la misma dosis al cuarto día del trasplante. La vida media del fármaco es de 7 días. Como efectos secundarios pueden presentarse reacciones alérgicas, incluso anafilaxia y SLPT (83).

Alemtuzumab (Campath 1H®): Se trata de un anticuerpo monoclonal humanizado contra el antígeno CD52. En humanos, el antígeno CD52 se expresa fundamentalmente en los linfocitos de sangre periférica, monocitos y macrófagos. Inicialmente, el alemtuzumab se

desarrolló para el tratamiento de los tumores de origen linfoide, investigándose después como aplicación en las enfermedades autoinmunes y como prevención del rechazo en TOS. Su mecanismo de acción no se conoce con exactitud. El alemtuzumab se une a todos los linfocitos B y T, a los monocitos, timocitos y macrófagos a través de la interacción con el fragmento de unión con anticuerpos. Como terapia de inducción se administra una o dos dosis de 20-30 mg, en los días 1 y 4. Se debe proteger de la luz y administrarse por vía iv, diluido en 100 cc de salino o dextrosa, durante 2 horas. Se pueden presentar como efectos secundarios hipotensión, fiebre, bradipnea, bronco espasmo, escalofríos y rash. Estos pueden mejorar con premedicación a base de antihistamínicos, paracetamol y corticoides. Al producir una linfopenia grave pueden generar infecciones oportunistas (Candida, Mucor, Pneumocystis jirovecii, etc.) (84-85).

Terapia de mantenimiento y fármacos para inmunosupresión de mantenimiento:

La terapia de mantenimiento basada en el empleo de corticoides asociados a azatioprina era la estándar para trasplante de órganos durante los primeros años. En 1980 Calne introduce la CSA como inmunosupresor más potente y en los 90 Starzl emplea el tacrolimus en trasplante hepático. Posteriormente su empleo se extendió al TI (77). Mejoras en la supervivencia tanto al año como a largo plazo en el TI han sido comunicadas en el empleo de regímenes basados en tacrolimus en comparación con CSA (86,87). También se ha comunicado el empleo de otros fármacos como sirolimus, reservándolo algunos grupos cuando es necesario una segunda línea de actuación (88,89). A continuación se exponen las características de los fármacos más empleados:

Corticoides: utilizados junto con la azatioprina como terapia de mantenimiento del trasplante hepático y como tratamiento del rechazo. Hoy en día, siguen formando parte de la terapia de mantenimiento junto al tacrolimus y otros fármacos, con tendencia a la retirada lo antes posible a partir de los 3 meses para evitar sus efectos secundarios. Los corticoides son potentes inmunosupresores con acción antiinflamatoria que inhiben la activación de las células T en varios niveles de la cascada de activación. Se absorben rápidamente en el tracto gastrointestinal y se metabolizan en el hígado. En los periodos pre, intra y postoperatorio se administran por vía iv, pasando a la vía oral cuando se inicia la tolerancia digestiva. Se baja la dosis progresivamente, de manera que a los 3 meses la dosis es de 10 mg/día, y a partir de este momento de 5 mg/día, pudiendo retirarse posteriormente. Como efectos secundarios más

importantes se señalan: hiperglucemia, hiperlipidemia, retraso del crecimiento infantil, síndrome de Cushing, mala cicatrización de las heridas, úlcera péptica, osteoporosis, debilidad muscular, retención de líquidos, HTA, cefalea, depresión, insomnio, cataratas y glaucoma.

Azatioprina: Es un antimetabolito aplicado en principio en el trasplante renal. Es metabolizado por el hígado convirtiéndose en 6-mercaptopurina (6-MP) que es el metabolito activo. La azatioprina interfiere con los precursores de la síntesis de purinas, inhibiendo así la síntesis de ADN y ARN. La dosis diaria es de 1-3 mg/kg, aconsejándose 1,5 mg/día cuando se asocia sólo a los corticoides. Como efectos secundarios puede originar mielo-supresión, malformaciones congénitas, tumores cutáneos.

Micofenolato Mofetilo (MMF): Es el éster del ácido micofenólico, su componente biológico activo. Es un antibiótico y antimetabolito, obtenido de distintas especies de *Penicillium*, que inhibe la síntesis de la guanosina fosfato, una enzima que desempeña un papel fundamental en la síntesis del ADN de los linfocitos T y B. Además de la inhibición selectiva de los linfocitos T y B inhibe también: la proliferación del músculo liso, la síntesis de anticuerpos, la glicosilación de las moléculas y la proliferación y diferenciación de la línea celular. La dosis oral recomendada es de 1 gr/12 horas, reservándose la administración iv para casos excepcionales de intolerancia oral al MMF. Los efectos adversos más frecuentes son gastrointestinales (diarrea, dolor abdominal, náuseas y vómitos) en el 30% de los casos, y la mielotoxicidad (anemia, leucopenia o trombocitopenia) en menos del 2% de los casos, aunque éstos son habitualmente bien tolerados.

Ciclosporina A (CSA): Se aisló de un hongo (*Tolypocladium inflatum*), siendo utilizada como inmunosupresor en el trasplante renal, hepático y pancreático. A mediados de los 90 se desarrolló una nueva formulación de la CSA, la CSA neoral, con mejor absorción y una biodisponibilidad del fármaco que aumentaba hasta un 40%. Es un ICN, previniendo la defosforilación de las proteínas unidas al ADN. A nivel celular, la CSA actúa contra los linfocitos CD4, previniendo la producción de citocinas y la generación y proliferación de células T citotóxicas. La dosis inicial suele ser de 10 mg/kg/día. Cuando la vía es iv la dosis se reduce a la tercera parte. Como efectos adversos presenta: diabetogenicidad (debida a toxicidad sobre las células beta de los islotes de Langerhans), hiperlipidemia, nefrotoxicidad, neurotoxicidad, HTA, hipertrofia gingival, efecto carcinógeno (tumores de novo), etc. El mantenimiento de niveles en sangre entre 300-400 ng/ml es lo más beneficioso para el

enfermo, ya que los niveles por encima de 400 ng/ml se asocian a una incidencia del 35% de nefrotoxicidad, mientras que por debajo de 300 ng/ml se asocia a una incidencia de rechazo del 16%.

Tacrolimus (FK 506): Es un antibiótico macrólido derivado del hongo *Streptomyces tsukubaensis*. Es un inmunosupresor 100 veces más potente “in vitro” que la CSA. Desde mediados de los 90, el tacrolimus ha reemplazado a la CSA como principal inmunosupresor de mantenimiento en trasplante de páncreas, hígado, riñón e intestino. Actúa como ICN inhibiendo la producción de citocinas. En el contexto de un rechazo previene la migración de los linfocitos y la quimiotaxis. Se puede administrar bien por vía iv. o por vía oral, aunque la mayor parte de las veces es necesario solapar ambas vías de administración. Como la mayoría de los grupos realizan una inducción con anticuerpos, la mayor parte de las veces se administra por vo y los niveles plasmáticos del mismo se alcanzan cuando finaliza la terapia de inducción. En caso de no realizar la terapia de inducción, se debe administrar por vía endovenosa durante los primeros 7 días, para alcanzar niveles en rango adecuado. La mayor parte de los protocolos de los distintos centros trasplantadores tratan de mantener unos niveles plasmáticos durante los primeros tres meses en torno a 15 y 20 ng/ml, para posteriormente mantenerlos en torno a 8 y 15 ng/ml. Dichos niveles se pueden reducir hasta dejarlos entre 5 y 10 ng/ml o menores, si el tacrolimus se combina con otros fármacos inmunosupresores como el MMF o la rapamicina. Los efectos secundarios del tacrolimus son similares a los descritos de la CSA, como la nefrotoxicidad, neurotoxicidad, síndrome hemolítico urémico y la diabetes, entre los más importantes. Muchos de estos efectos secundarios dependen de las dosis, disminuyendo en intensidad o desapareciendo cuando éstas se reducen.

Rapamicina (Sirolimus): Es un antibiótico macrólido producido por el *Streptomyces hygroscopicus*. Aunque es un antifúngico y antibiótico también es un inmunosupresor. La rapamicina inhibe la proliferación de los linfocitos T inducida por la IL-2, sin afectar la producción de IL-2, y también inhibe los antígenos y citoquinas producidas por la proliferación de las células B. Este fármaco también inhibe la proliferación del endotelio vascular y las células musculares lisas, pudiendo desempeñar, por tanto, un papel fundamental en la profilaxis contra el rechazo crónico (RC). Después de la administración oral se absorbe rápidamente alcanzando el pico de la concentración máxima en una media de dos horas. La utilización de la rapamicina en el TI se acepta en aquellos pacientes con efectos secundarios derivados del tacrolimus, y fundamentalmente la nefrotoxicidad. Entre los efectos adversos de

la rapamicina se han descrito: toxicidad hematológica, sobre todo neutropenia (responde a la reducción de dosis), hiperlipidemia (disminuye con fibratos), hipercolesterolemia (responde a las estatinas), toxicidad gastro-intestinal (más frecuente con dosis altas), epistaxis, úlceras aftosas, artralgia, acné, rash, hirsutismo y retraso en la cicatrización de las heridas.

MANEJO POST-OPERATORIO:

Como todos los aspectos relacionados con este trasplante, el manejo y cuidado de estos pacientes en las unidades de cuidados intensivos una vez realizada la cirugía ha supuesto una auténtica novedad y un reto para los equipos asistenciales. No sólo es importante una adecuada técnica quirúrgica o un protocolo inmunosupresor óptimo. El cuidado de estos pacientes en las primeras horas del trasplante es crucial para una adecuada evolución. Se trata de casos que precisan de un adecuado soporte ventilatorio, buenos accesos vasculares, antibioterapia o fluidoterapia, pero para los que apenas hay estudios que especifiquen los requerimientos de estos pacientes (90).

El grupo de medicina intensiva del Hospital 12 de Octubre publicó su experiencia con los primeros pacientes trasplantados entre 2004 y 2005 (91). Un total de cuatro casos fueron estudiados. Las conclusiones a las que se llegó con en el cuidado de este tipo de pacientes son las siguientes: se tratan de pacientes con un postoperatorio inmediato en la UCI favorable que permanecen hemodinámicamente muy estables; con un período de suspensión de la ventilación mecánica (destete) corta. Son portadores de pocos catéteres y la ileostomía es funcionante desde el primer día. Los cuidados de enfermería más específicos del TI son fundamentalmente: herida quirúrgica, drenajes e ileostomía. La necesidad de un protocolo de inmunosupresión intenso implica aislamiento protector y que haya una enfermera para cuidar a cada paciente con TI (ratio enfermería: paciente 1:1).

Los puntos básicos a manejar en un paciente con TI serían los mismos que se controlan en cualquier paciente trasplantado ingresado en UCI:

Control hemodinámico: asegurar una adecuada perfusión y oxigenación del injerto desde la reperusión del mismo y evitar los estados de hipotensión, anemia e hipoxia. Por tanto se precisa de una hidratación y fluidoterapia adecuada, monitorizada con la medición de las presiones venosas centrales (PVC) y mantener un hematocrito en torno al 27-30%. La perfusión del injerto se puede evaluar realizando un eco-doppler abdominal y examinando el

aspecto del estoma. Por otro lado, se debe mantener a los pacientes con saturaciones arteriales de oxígeno (SaO₂) en torno al 95%.

Control respiratorio: Los pacientes muestran intubación oro-traqueal (IOT) tanto durante el procedimiento como durante la estancia en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI-UVI)

Control de la función renal (FR): Los pacientes trasplantados de cualquier órgano suelen desarrollar cierto grado de IR en el postoperatorio del trasplante. En el caso del TI y TMV, este problema se agrava, debido a la presencia de la ileostomía que aumenta las pérdidas, favoreciendo la hipovolemia y el daño pre-renal. Este FR suele ser multifactorial interviniendo: la IR pre-Trasplante, la hipotensión mantenida y anemia, la deshidratación por pérdidas a través del estoma, el uso de ICN como IS de base y la nefrotoxicidad de antibióticos y antivirales utilizados como profilácticos.

Para la prevención y control hay que mantener un adecuado balance hídrico, minimizar las pérdidas a través del estoma usando antidiarreicos si es necesario. Realizar una adecuada fluidoterapia, controlar los niveles del ICN, antibióticos y antivirales y evitando el uso de anti-inflamatorios no esteroideos (AINES).

Control del balance hidro-electrolítico: La malabsorción y las pérdidas por el estoma condicionan la presencia de hipocalcemia e hipomagnesemia. Las pérdidas de agua, sodio y bicarbonato conllevan a una acidosis metabólica, que suele requerir corrección. La hipomagnesemia puede potenciar la toxicidad por el tacrolimus por lo que los niveles deben ser vigilados muy estrechamente.

Control nutricional: Los pacientes críticos debido al estado de hipercatabolismo que poseen un incremento del consumo de proteínas y calorías. Además, suelen ser enfermos con importante desnutrición en régimen de NP. Esta debe mantenerse tanto antes del trasplante como en los primeros días posteriores al trasplante hasta que el injerto funcione adecuadamente. Una lesión de preservación de la mucosa del injerto condiciona estados de malnutrición. La alimentación debe comenzarse a través de la yeyunostomía o a través de la gastrostomía a partir del 7º día del postoperatorio, progresando la dieta gradualmente, basándose en la tolerancia enteral y el grado de absorción que tenga el paciente. Pérdidas a través del estoma entre 40 a 50 ml/kg/día se consideran aceptables. La presencia de diarrea secretora representa con frecuencia un signo de infección o de rechazo.

Monitorización del injerto: el seguimiento biopsico del injerto es fundamental para diagnosticar complicaciones como el rechazo, las infecciones o el síndrome linfoproliferativo. Para ello se precisa interpretar de forma adecuada las biopsias con la información clínica pertinente que debe referirse a los signos y síntomas del paciente, los hallazgos endoscópicos y la analítica. Los datos que debe aportar la endoscopia son los relativos a la localización de las biopsias, si se trata de mucosa nativa o de mucosa del injerto y si se han biopsiado lesiones específicas o se han tomado muestras de mucosa sin alteración aparente. Las biopsias deben obtenerse en el periodo post-trasplante inmediato y cuando exista clínica. Según los distintos protocolos se toma en ausencia de clínica, una media de 2-3 biopsias por semana en el primer mes y 1-2 en los dos meses siguientes. La frecuencia de biopsia según los protocolos indica la periodicidad con las que deben realizarse y las circunstancias en las que estas deben realizarse a demanda (16). Un mínimo de tres niveles debe muestrearse y las biopsias deben ser lo suficiente profundas para incluir un número relevante de criptas, mucosa, muscularis mucosae y submucosa superficial. Las biopsias próximas a el estoma no deben tomarse por los cambios inespecíficos que se observan en esta localización (92).

COMPLICACIONES:

Las complicaciones que pueden presentar los pacientes con TI podemos dividir las en dos grupos. Por un lado podemos hablar de complicaciones inmediatas relacionadas con la cirugía y eventos adversos que pueden darse en el postoperatorio inmediato y por otro podemos estudiar las complicaciones que aparecen en la propia evolución del injerto y el paciente.

Complicaciones quirúrgicas:

Las complicaciones quirúrgicas van a tener impacto en la mortalidad y morbilidad de pacientes con TI. Han sido numerosos los avances realizados en las técnicas y procedimientos que se llevan a cabo en el acto quirúrgico, pero aun así estos no evitan que aparezcan complicaciones en el momento de la cirugía o en el postoperatorio inmediato. El tipo de trasplante realizado así como el número de órganos incluidos como parte del injerto aumenta la complejidad y las posibles complicaciones post-operatorias. A esta situación hay que añadir que la incidencia, las causas y el manejo de las complicaciones asociadas al TI no han sido bien identificadas en la literatura y algunos grupos de trabajo las han estudiado en la población pediátrica y no en la adulta (93).

La incidencia de complicaciones post-trasplante se encuentra entorno al 57-64% según las series (13,47,86,94-95). Según datos del ITR la trombosis es de las complicaciones tempranas que más han impactado en la pérdida del injerto (20.6%).

Las reintervenciones se indican fundamentalmente por hemorragia, dehiscencia de sutura y fistulas anastomóticas, perforación intestinal, abscesos intraabdominales, obstrucción intestinal, vólvulo intestinal, prolapso de estoma, evisceraciones, fistula biliar y trombosis vasculares, llegando a tener que realizar un explante del injerto en casos graves. La hemorragia post-operatoria puede asociarse tanto a disfunción del injerto hepático en casos de THI o TMV, como a las disecciones a realizar durante las enterotomías o exenteraciones abdominales. Por tanto es necesaria una adecuada hemostasia durante toda la cirugía aunque prolongue el tiempo quirúrgico.

Los hematomas murales, el sangrado abdominal y las perforaciones pueden surgir como complicaciones de los procedimientos endoscópicos empleados. Los abscesos y colecciones intraabdominales pueden desarrollarse sin perforación de víscera hueca ni fistula. La contaminación de la cavidad por restos de hematomas o al extraer el intestino nativo puede producir focos infecciosos que serán necesarios eliminar por drenaje percutáneo o incluso mediante lavado peritoneal. El vólvulo del injerto es una complicación que puede comprometer a todo el injerto y que puede evitarse con una adecuada fijación de la raíz del mesenterio al final del implante. La fistula pancreática es una complicación asociada a la Técnica de Omaha (53) y difícil de manejar. Esta situación ha llevado a algunos grupos de trasplante a no seccionar la glándula a nivel de la unión corporo-cefálica, dejándola completa. La ascitis quilosa se desarrolla cuando no es posible reestablecer el drenaje linfático durante el implante. Consiste en la extravasación de quilo a la cavidad peritoneal, con unos niveles de triglicéridos en el líquido ascítico $\geq 200\text{mg/dl}$. Generalmente con una dieta adecuada se puede manejar, no requiriendo control quirúrgico, ya que la regeneración del sistema linfático después del TI comienza a realizarse a partir de las dos primeras semanas de la cirugía (96). La ileostomía puede sufrir prolapsos o hernias paraestómicas. La dehiscencia de la pared puede aparecer con frecuencia, por lo que se debe evitar el cierre a tensión usando mallas reabsorbibles o la vaina del recto anterior del abdomen. En ocasiones es necesario recurrir a la ecografía abdominal o la tomografía computarizada (con contraste transgastrostómico, rectal y por ileostomía) para el diagnóstico y manejo de estas complicaciones.

Complicaciones infecciosas:

Las infecciones y las neoplasias malignas son las dos complicaciones mayores asociadas a los tratamientos inmunosupresores prolongados, empleados en el mantenimiento de los injertos en el TOS. La reactivación de infecciones latentes en el órgano trasplantado o el receptor y/o la exposición a patógenos del medio (nosocomial o en la comunidad) son las dos vías por las que con mayor frecuencia se origina esta complicación. CMV, EBV, *Toxoplasma gondii*, *Strongyloides stercoralis*, y *Trypanosoma cruzi* son ejemplos de microorganismos que pueden reactivarse, estando este riesgo asociado a la inmunosupresión realizada. No hay que olvidar que la respuesta a la infección por parte del paciente también va a estar modificada por la inmunosupresión, siendo generalmente de menor intensidad. En la evaluación de un candidato a trasplante hay que evitar al máximo los eventos infecciosos postoperatorios. Por tanto es imprescindible estudiar los antecedentes de exposición, realizar cultivos microbiológicos y una serología completa y la administración de vacunas. La profilaxis administrada de rutina incluye trimetoprim-sulfametoxazol para *Pneumocystis jirovecii*, nistatina y/o clotrimazol para infecciones fúngicas y profilaxis para CMV. Los pacientes que presentan mayor riesgo para la infección por CMV son los seronegativos que reciben un injerto seropositivo (D+/R-) y los pacientes con infección latente que precisan terapia inmunosupresora de inducción con anticuerpos antilinfocito. Generalmente la profilaxis se realiza con ganciclovir iv y valganciclovir oral (16).

Según el momento del post-trasplante (primer mes, primer mes-seis meses y más de seis meses) puede haber unos patógenos más implicados que otros. En el primer mes pueden producirse infecciones procedentes del donante o receptor o complicaciones infecciosas de la cirugía o la hospitalización. Entre el primer y sexto mes es cuando los pacientes tienen mayor riesgo de desarrollar infecciones oportunistas por el mayor impacto de la inmunosupresión. A partir de los seis meses post-trasplante la terapia inmunosupresora se ha conseguido estabilizar en la mayoría de los casos existiendo el riesgo de padecer infecciones adquiridas en la comunidad.

En el TI la infección es la causa más frecuente de morbilidad, pérdida del injerto y mortalidad, tanto a corto como a largo plazo (86-87). Según las series publicadas entre un 91-93% de los pacientes desarrollan algún fenómeno infeccioso, produciéndose con más frecuencia en los primeros tres meses y siendo usualmente de componente bacteriano (97-98).

El tipo de TI también parece influir, habiéndose registrado menor tasa de infecciones en el TMV que en el TIA (99).

En condiciones normales la mucosa intestinal actúa como barrera, impidiendo que la flora bacteriana emigre al sistema circulatorio, en el TI dicha barrera se altera, produciéndose una traslocación bacteriana. Los factores de riesgo que se han correlacionado con la traslocación bacteriana son el uso prolongado de antibióticos, la NPT prolongada, el síndrome de isquemia-reperusión, el sobrecrecimiento bacteriano, los trastornos de la motilidad intestinal, la insuficiencia hepática y la inmunosupresión. Las bacterias que aparecen con más frecuencia son: *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Enterobacter* y *Klebsiella*.

La edad pediátrica, la hospitalización, la malnutrición, la IR, las intervenciones quirúrgicas abdominales previas al TI, el uso prolongado de vías venosas centrales para la administración de NP, la trombosis de la VCI y la resistencia a los antibióticos de uso prolongado son factores de riesgo relacionados con la aparición de infección previos a la realización del TI (97).

Infecciones bacterianas:

Las infecciones bacterianas son las más frecuentes (hasta 94%) y las que ocurren antes (primeras dos semanas), con afectación extraintestinal inicial. La bacteriemia, la infección respiratoria y la infección abdominal son las formas más frecuentes. Más del 80% de los pacientes con TI tienen una infección bacteriana relevante antes de los dos meses post-trasplante (98). Las bacterias más frecuentemente implicadas son *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomona aeruginosa*, siendo el origen abdominal la fuente de las mismas en el 16,5% de los casos, de origen respiratorio en un 5,7%, de la herida quirúrgica en un 4,1% y sin origen identificado en un 36,3% de los casos (99).

Según estas revisiones hasta en un 18% de los pacientes la infección bacteriana fue causa directa de muerte y estuvo presente en el 76% de pacientes que fallecieron (98,100). Recientes estudios indican que la inclusión del colon en el injerto parece no asociarse con un incremento de las infecciones bacterianas (101).

También se ha estudiado el impacto de la infección por *Stafilococcus aerus* en este tipo de pacientes, concluyéndose que la infección por esta bacteria afecta negativamente en la morbilidad de los pacientes pero no en la supervivencia (102).

Infecciones virales:

Las infecciones virales son las segundas más frecuentes en ocurrir, sucediendo en los primeros 6 meses. Los agentes infecciosos más frecuentemente implicados son CMV y VEB. Pueden aparecer como una primoinfección transmitida a través del injerto (donante seropositivo con receptor seronegativo), o por una reactivación de los virus previamente existentes, latentes en el receptor, como consecuencia de la inmunosupresión.

Las infecciones que directamente pueden afectar al intestino son las producidas por CMV, VEB, adenovirus, rotavirus y calcivirus. Siendo necesario reconocerlas o al menos sospecharlas en el estudio histológico. No diagnosticarlas o hacerlo tarde puede suponer tratamientos incorrectos y un aumento de la morbilidad (103). También hay autores que han planteado si la enteritis infecciosa predispone a padecer RA (104).

Hasta un 80% de la población se ha expuesto a **CMV**, pero es en los pacientes con TOS donde supone un riesgo su primoinfección o reactivación, debido a los regímenes de inmunosupresión a los que están sometidos estos pacientes. La infección por CMV se define con las manifestaciones clínicas y la presencia de antígenos virales o de ácidos nucleicos en sangre o biopsia a través del cultivo, serología o las técnicas de detección de ADN o ARN. Para poder diagnosticar una infección por CMV es necesario una clínica adecuada y la demostración del virus en biopsia con IHQ o hibridación in situ (HIS). La enteritis por CMV puede ser difícil de diferenciar clínica e histológicamente de un rechazo agudo, siendo muy importante distinguir entre ambos procesos debido al manejo terapéutico diferente que tienen. Antes del uso de la terapia profiláctica antiviral la enfermedad por CMV afectaba al 39% de pacientes con TI, siendo la enteritis la forma más frecuente de enfermedad, hasta un 81% de los episodios (105-106). Los hallazgos endoscópicos no son específicos (ulceraciones única o múltiples) y hasta un 25% de los casos puede tener la mucosa intestinal una apariencia normal. Histológicamente la infección por CMV se caracteriza por la presencia de un infiltrado inflamatorio mixto, asociado a las células infectadas que presentan las inclusiones intranucleares rodeadas de un halo claro y una membrana nuclear engrosada. Estas inclusiones se encuentran con más frecuencia en las células endoteliales y estromales y menos en enterocitos. El estudio con IHQ o reacción en cadena de la polimerasa (PCR) confirma la presencia del virus. Los hallazgos histológicos que podemos encontrar en los pacientes con TI son variables, desde focos de infiltrado inflamatorio mixto hasta ulceraciones con o sin

formación de pseudomembranas. La forma más frecuentemente descrita consiste en una zona de mucosa intestinal bien demarcada con un aumento en lámina propia de células inflamatorias. Con hematoxilina-eosina (HE) la presencia de inclusiones virales se ha demostrado en menos de un 10% de los casos (107).

El **adenovirus** es un agente que en pacientes inmunocompetentes produce cuadros respiratorios o gastrointestinales autolimitados. Es más frecuente en la población pediátrica, reportándose hasta en un 24% de estos pacientes con TI (108). Una edad joven y un régimen de inmunosupresión agresivo parecen ser los factores de riesgo para el desarrollo de la enfermedad invasiva. Clínicamente la enteritis por adenovirus puede sospecharse ante un aumento de la descarga por la ostomía o la presencia de fiebre sin otras explicaciones. Histológicamente puede haber edema en las vellosidades con desprendimiento del epitelio de superficie. Las inclusiones virales son intranucleares, eosinófilas y suelen encontrarse en los enterocitos superficiales. En la lámina propia hay un aumento del infiltrado inflamatorio, que es de tipo mixto y un aumento de las apoptosis en las criptas glandulares. Estos hallazgos deben plantear un diagnóstico diferencial con un rechazo agudo (109). La confirmación de la infección puede hacerse sobre el material biopsico por IHQ o mediante microscopía electrónica (ME), revelando partículas intranucleares virales de 72-82 nm (110). También puede detectarse su ADN por PCR, aunque su uso no está del todo extendido (111).

Rotavirus y **calcivirus** son dos virus con tropismo por el intestino, característicos de la población pediátrica, que pueden provocar disfunción del injerto. Histológicamente producen cambios en la mucosa inespecíficos como el edema de las vellosidades, desprendimiento del epitelio de superficie, sin presencia de inclusiones virales características y con un infiltrado crónico. La infección puede demostrarse con el test antigénico para rotavirus o PCR para calcivirus (112-113).

La importancia de la infección por **VEB** radica en su asociación con el SLPT. De la familia de los herpesvirus (también incluye el virus del herpes simple y el CMV), es la mayor causa de la mononucleosis aguda infecciosa y se asocia con un espectro muy amplio de neoplasias linfoproliferativas que incluyen el linfoma de Burkitt, la enfermedad de Hodgkin, los linfomas de células T, el granuloma letal de la línea media y los procesos linfoproliferativos de células B (114). Como el resto de los herpes virus es capaz de persistir de por vida, de forma latente en el organismo y de recidivar. Tiene un especial tropismo por los linfocitos B y T y por el

epitelio escamoso de la nasofaringe. La infección en humanos por el VEB origina inmunidad humoral y celular frente al virus. Aunque la detección de anticuerpos dirigidos contra las proteínas estructurales del virus y contra el EBNA es importante para el diagnóstico de infección, la inmunidad celular es lo más importante para el control de la infección por VEB. Durante la infección primaria, la proliferación de las células B es controlada por las células NK y los linfocitos T CD4 y CD8. En los países occidentales, al menos el 90% de la población mayor de 40 años tiene inmunidad frente a este virus, habiéndose adquirido en la gran mayoría de las veces a través de una infección subclínica. Los síndromes linfoproliferativos postrasplante (SLPT) son la segunda neoplasia en orden de frecuencia después de los tumores de piel en pacientes trasplantados, y la primera en el caso de receptores infantiles y una de las complicaciones graves que presentan los trasplantes de órgano sólidos, especialmente en la era en que los fármacos inhibidores de la calcineurina forman parte de los regímenes inmunosupresores. Son factores de riesgo la infección primaria por el VEB y la inmunosupresión, en especial la utilización de anticuerpos antilinfocitarios. En el caso del TI, cuando un receptor es seronegativo frente a VEB, se recomienda no trasplantar un injerto procedente de un donante seropositivo, por el alto riesgo que conlleva (16). El SLPT secundario al VEB se presenta en torno a un 6-9% de los enfermos al cabo de una media de 4 meses después del TI (87).

Infecciones fúngicas:

Las infecciones por hongos ocurren más tardíamente que las virales o bacterianas. Según una de las últimas series publicadas, la infección fúngica se detectó en un 25% de 98 receptores, siendo *Candida spp* el agente implicado con mayor frecuencia. La infección intraabdominal sucede alrededor del primer mes, mientras que la fungemia ocurre a los 6 meses del trasplante (115).

Infecciones intrabdominales:

Las infecciones intrabdominales pueden manifestarse como un cuadro de peritonitis difusa o bien como un absceso. Suceden durante los dos primeros meses posteriores al trasplante en el 78.1% y se consideran de extrema gravedad, suponiendo un 50% de las causas de muerte en el caso de peritonitis difusas y hasta un 30% de mortalidad en los casos de abscesos o colecciones intrabdominales en el plazo de 1 mes después de su diagnóstico (98). El

diagnóstico de estos cuadros debe ser rápido para poder realizar un tratamiento quirúrgico y antimicrobiano urgente.

Rechazo:

El rechazo sigue siendo una de las grandes barreras en el éxito del trasplante. Se define como una reacción inmunológica del receptor contra la presencia del injerto, que lo lesiona produciendo potencialmente su disfunción y su fracaso (116). Las manifestaciones clínicas suelen ser inespecíficas, siendo fundamental el estudio biopsico para establecer la existencia de lesión histológica y poder guiar el manejo terapéutico. La biopsia debe interpretarse con una adecuada correlación anatomo-clínica, con información que incluya el tipo de trasplante, su indicación, el intervalo postrasplante, el tipo de tratamiento recibido y los principales datos generales, analíticos y de imagen. Según la situación del paciente, las biopsias pueden realizarse de forma protocolizada según un calendario, o a demanda si existe clínica o sospecha de patología. En el primer caso se pueden detectar episodios de **rechazo subclínico** (situación en que la biopsia presenta hallazgos histológicos de rechazo sin síntomas clínicos). El significado del rechazo subclínico es controvertido, tratándose habitualmente el rechazo clínico (117). En un episodio de rechazo deben realizarse varias biopsias para poder aportar información sobre la evolución de la lesión y conocer si estamos ante un rechazo mantenido, un rechazo en vías de resolución o un rechazo resuelto. En función de la modulación terapéutica de la inmunidad, el cuadro histopatológico del injerto puede cambiar rápidamente. Por ello, el estudio histopatológico debería estar disponible lo antes posible. En actuaciones intraoperatorias puede emitirse un informe anatomopatológico en tan solo 15-20 minutos, pero éstas se basan en cortes de tejido obtenidos mediante su congelación, que por su calidad no se recomiendan para la valoración del rechazo. Debe realizarse una valoración mediante un estudio histológico convencional con cortes fijados en formalina e incluidos en parafina, al que pueden aplicarse métodos de procesamiento rápido que permitirán disponer del estudio microscópico en 4-6 horas. En el estudio de microscopía óptica convencional se realizan cortes histológicos teñidos con hematoxilina-eosina, complementado habitualmente con otras tinciones, variables según cada injerto. En determinados tipos de injertos o para determinadas patologías se realizan también otros estudios complementarios (IHQ, ME, biología molecular).

El rechazo del injerto de órgano sólido puede clasificarse en base al momento de su aparición (hiperagudo, agudo y crónico) o en función del mecanismo etiopatogénico implicado (humoral o celular). De forma simplificada, el rechazo hiperagudo ha sido sinónimo de rechazo humoral, mientras que rechazo agudo (RA) y el rechazo crónico (RC) se han considerado rechazos celulares. Pero la patogenia del rechazo es más compleja, y actualmente se conoce qué factores celulares y humorales pueden actuar a lo largo de la vida del injerto, junto a factores no inmunológicos, en el desarrollo de las lesiones del rechazo. La incorporación de nuevos parámetros en el estudio de la patogenia del rechazo y la estandarización internacional de los criterios histológicos diagnósticos y de gradación de los distintos tipos de rechazo, están permitiendo profundizar en su conocimiento y manejo. La idiosincrasia de cada tipo de órgano trasplantado hace que la clasificación del rechazo sea particular en cada uno de ellos.

El **rechazo celular** está mediado por células linfoides T y su expresión anatómico-clínica se divide en dos tipos, el agudo y el crónico. Aunque existen criterios histopatológicos que diferencian al RA del RC, existe cierto grado de solapamiento entre los periodos en los que clásicamente se considera que aparecen (pueden observarse rechazos agudos tardíos y rechazos crónicos tempranos), con frecuencia aparecen juntos en una misma biopsia, y no siempre se cumple que el RA es reversible y el RC no.

El **rechazo humoral** (RH) es una respuesta mediada por anticuerpos. Su prototipo clásico es el rechazo hiperagudo, que está mediado por anticuerpos preformados que actúan frente a antígenos del implante.

El TI es peculiar debido a los complejos acontecimientos inmunológicos que siguen al implante de un órgano linfoide. Inmediatamente después del trasplante comienza una infiltración de linfocitos del receptor en el injerto para repoblar su tejido linfoide durante semanas o meses y en ese tejido (lámina propia de la mucosa y placas de Peyer) suceden estímulos inmunes intensos que se manifiestan morfológicamente por infiltrados inflamatorios, daño epitelial y apoptosis en las criptas. La distribución anatómica de ese tejido linfoide hace que estos fenómenos sean parcheados, más frecuentes en el íleon, y su diagnóstico exige múltiples tomas de biopsias a distintos niveles. En este proceso intervienen tanto la respuesta del sistema inmune innato como el adaptativo y su interrelación (118-119). El daño celular originado durante la extracción o la isquemia-reperusión libera citocinas y

sustancias mediadoras de la inflamación que a su vez activan a las células presentadoras de antígeno (APC) e inician y amplifican la respuesta del sistema inmune adaptativo. Es reconocida la todavía escasa capacidad de controlar el rechazo de este injerto comparado con la de otros órganos sólidos, pero si este no es diagnosticado y tratado con prontitud, puede rápidamente aumentar su gravedad y conducir al fracaso del injerto e incluso a la muerte del paciente. Por otro lado el empleo de altas dosis de inmunosupresión puede condicionar la presencia de infecciones letales. Es necesario por tanto diagnosticar y manejar los episodios de manera exquisita para minimizar todo lo posible estos desenlaces y saber que la lesión mucosa del rechazo, incluso moderado o grave, puede ser reversible con tratamiento inmunosupresor adicional (120). Tampoco hay que olvidar que el empleo de determinados fármacos inmunomoduladores puede simular lesiones histológicas encontradas en el rechazo. Tal es el caso del micofenolato mofetil, agente inmunosopresor que ha sido relacionado con la aparición de colitis con distorsión de la arquitectura, apoptosis, criptitis e infiltrados inflamatorios en la mucosa colónica, hallazgos que pueden simular un ataque inmune (121-122).

El rechazo en el TI ocurre en torno a un 69% según las series. Su aparición no parece estar condicionada por la presencia de una prueba cruzada positiva o por la presencia de un panel de anticuerpos reactivos pretrasplante (123). Y según un reciente estudio en pacientes con reacción cruzada positiva el uso de agentes anti-L2 como terapia de inducción podría suponer una mejor evolución de estos a lo largo del tiempo (124). La mayoría de los pacientes experimentan uno o más episodios de RA cuyo episodio inicial suele suceder entre el 5º y 60º día post-trasplante, aunque también el rechazo tardío es frecuente. Esta incidencia explica el alto número de indicación de biopsias endoscópicas en cada paciente, que además, han de ser informadas con una mayor urgencia, lo que exige un procesamiento muy rápido. Las biopsias deben ser profundas e incluir muscularis mucosae y submucosa y deben incluir múltiples muestras que se remitirán en envases separados (3 tomas de anastomosis, 3 tomas del íleon, 4-5 a 10 cm de la ileostomía) (94,120).

Rechazo humoral (RH):

El **rechazo hiperagudo** y el **rechazo agudo acelerado** son términos que describen un acontecimiento en el que el injerto es rechazado en minutos/horas (hiperagudo) o pocos días (acelerado). Estos fenómenos se dan en pacientes sensibilizados a los antígenos del receptor y

con una respuesta humoral intensa. No es frecuente debido a los estudios de histocompatibilidad y *cross-match* que se realizan entre donante y receptor previos al trasplante. Los vasos del injerto son la principal diana, produciéndose fenómenos de isquemia y trombosis mediados por el depósito de inmunocomplejos. Existen escasas comunicaciones, describiéndose estos fenómenos en modelos experimentales de xenotrasplante animal (125). El grupo de P. Ruiz ha comunicado un caso en el que no hubo compatibilidad de HLA entre donante y receptor con anticuerpos pretrasplante donante-específico preformados. Inmediatamente tras la reperfusión del injerto la anastomosis se volvió oscura y congestiva con arteritis y daño isquémico mediado por el depósito de inmunocomplejos en el estudio histológico. Tras plasmaféresis e inmunosupresión intensa se logró controlar el rechazo con recuperación y estabilización del injerto y el paciente (126).

El **rechazo agudo vascular** (RAV) es una entidad escasamente descrita en TI, que generalmente se produce en un periodo temprano post-trasplante por la presencia de anticuerpos preformados en el donante frente a antígenos del receptor en un régimen inadecuado de inmunosupresión. La formación de novo de estos Ac o la presencia de autoanticuerpos en el receptor también pueden ser mecanismos implicados. Los cambios histológicos descritos consisten en una vasculitis de vasos de mediano tamaño que puede evolucionar a una necrosis de la pared vascular con un daño isquémico importante del injerto. En la microvasculatura de la mucosa se ha descrito congestión y extravasación de eritrocitos. El nivel de daño de los vasos de mayor calibre o de la microvasculatura puede graduarse de 0 a 3. Con técnicas de inmunofluorescencia se ha observado depósito de inmunoglobulinas en los vasos. Sin embargo parece no haber una clara correlación entre el depósito de C4d y el desarrollo de un rechazo humoral (127-128).

El C4d es un producto de degradación de la vía clásica del sistema del complemento. En dicha cascada la proteína C4 es convertida en C4a y C4b, y ésta última en C4d, que es un producto catalíticamente inactivo. La peculiaridad de C4d es que, en lugar de desaparecer como otros componentes del complemento, establece enlaces covalentes con componentes de las células endoteliales y con el colágeno de las membranas basales (MB), que lo mantienen en el tejido, y es por ello posible su detección mediante una técnica de inmunofluorescencia directa o de IHQ convencional. La valoración del depósito de C4d se ha incluido en los criterios morfológicos que definen el RH en el trasplante renal y el cardiaco (129-135). En el caso del TI no está tan caracterizado siendo poco precisos los datos publicados (136,137). Sin

embargo, el depósito de C4d puede observarse también en ausencia de signos histológicos o clínicos de rechazo y tampoco parece tener correlación con los niveles de anticuerpos donante-específicos circulantes (126). Su presencia en ausencia de lesión tiene un significado incierto (127-128).

Debido a la disparidad que existe en el diagnóstico del RH, se propuso en una reunión de consenso, en abril de 2003, una clasificación general de respuesta humoral aplicable a todos los órganos para facilitar las futuras investigaciones (130). En ella se dividía la respuesta humoral y el RH en las siguientes categorías:

I.- Respuesta humoral latente: Presencia de anticuerpos circulantes (contra HLA u otros antígenos expresados en las células endoteliales) pero sin alteraciones en la biopsia ni disfunción del injerto.

II.- Respuesta humoral silente (acomodación versus estado previo al rechazo): Presencia de anticuerpos circulantes (contra HLA u otros antígenos expresados en las células endoteliales) y depósitos de C4d, pero sin alteraciones histológicas ni disfunción del injerto.

III.- RH subclínico: Presencia de anticuerpos circulantes (contra HLA u otros antígenos expresados en las células endoteliales), depósitos de C4d y alteraciones histológicas, pero sin disfunción del injerto.

III.- RH: Presencia de anticuerpos circulantes (contra HLA u otros antígenos expresados en las células endoteliales), depósitos de C4d, alteraciones histológicas y disfunción del injerto.

Rechazo agudo celular (RAC):

Es la forma más frecuente de RA en intestino delgado, estómago y colon. Puede presentarse solo o asociado a RAV, infecciones u otras complicaciones.

Este tipo de rechazo es la consecuencia de la respuesta de los linfocitos T (CD4 y CD8) del receptor frente a los antígenos del donante y se caracteriza histológicamente por la tríada de un infiltrado inflamatorio mixto en la lámina propia con un componente de linfocitos activados, daño epitelial con inflamación en las criptas glandulares (criptitis) y un aumento de la apoptosis también a nivel de las criptas (94,139). El conteo de cuerpos apoptóticos se define como el número de apoptosis observadas en 10 criptas consecutivas en un corte de mucosa intestinal transversal. Los cuerpos apoptóticos se observan como fragmentos

nucleares en el interior de una vacuola y deben diferenciarse de los neutrófilos permeando la cripta (criptitis) y de otros fragmentos cromatínicos de cariorrexis (Figura 9). Las apoptosis de las células crípticas es un proceso fisiológico en la regulación del epitelio intestinal, pero que está aumentado en el RA, siendo útil para su diagnóstico en los casos de rechazo leve o indeterminado para rechazo (92). Se puede observar aumento de la apoptosis en otros procesos como en las enteritis virales (109) o en la enfermedad injerto contra huésped.

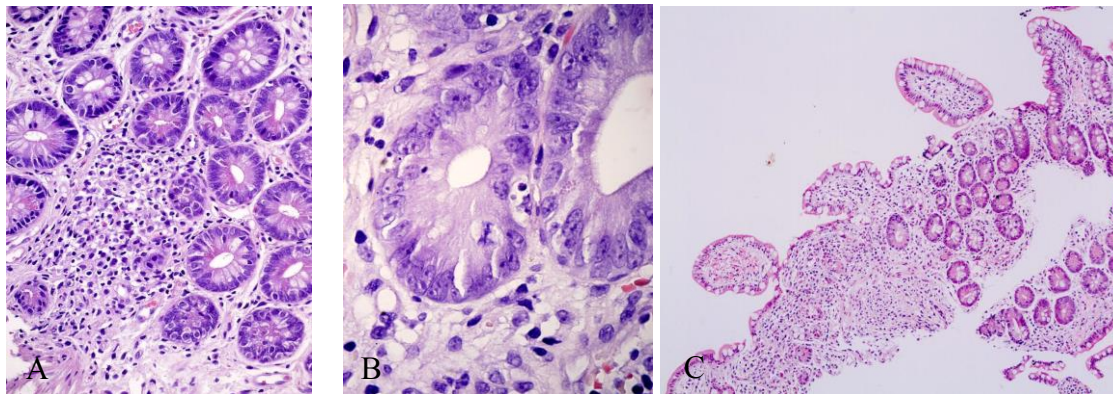


Figura 9. Hallazgos histológicos en los que se basa el diagnóstico de RA: infiltrado inflamatorio mixto en lámina propia con linfocitos, neutrófilos y eosinófilos con extensión a las criptas (criptitis) (A). Aumento del número de cuerpos apoptóticos en el epitelio críptico (B). Pérdida de criptas (C).

El diagnóstico de RAC precisa de una estrecha correlación clínica, endoscópica e histológica. Los datos clínicos más sugestivos son: fiebre, náuseas, vómito, dolor abdominal y distensión. El flujo a través del estoma intestinal aumenta y se hace acuoso. En los casos graves se pierde la integridad de la mucosa y de la barrera intestinal produciéndose una traslocación bacteriana que puede manifestarse como un shock séptico con acidosis metabólica, hipotensión y síndrome de distrés respiratorio.

Endoscópicamente se observa edema e hiperemia de la mucosa en grados leves de rechazo, y aspecto granular, pérdida del patrón vascular, disminución de la peristalsis y ulceraciones, en grados más graves de rechazo (140) (Figura 10).



Figura 10. Imágenes endoscópicas de la mucosa intestinal en distintos grados de rechazo: leve (A), moderado (B) y grave (C).

Los hallazgos histológicos han sido descritos en modelos experimentales y series clínicas, estando publicados esquemas diferentes para graduarlo (94,139,141-142). Esta falta de uniformidad producía que las distintas instituciones usasen sus propias nomenclaturas. Por este motivo durante el VIII Simposio Internacional de Trasplante de Intestino se elaboró una guía para graduar el rechazo y conseguir así una mayor correlación de los hallazgos con la clínica de los pacientes y entre los datos publicados de los distintos grupos (143).

Las características de los hallazgos histológicos se resumen a continuación para cada grado (Figura 11):

- Sin evidencia de RA (Grado 0): No hay evidencia de histológica de RAC. La mucosa conserva la arquitectura vellositaria, no hay aumento de la inflamación y se contabilizan dos o menos cuerpos apoptóticos. También puede existir cualquier otro tipo de patología no relacionada con el rechazo.
- Indeterminado para RA (Grado IND): La arquitectura está conservada o existe leve achatamiento de las vellosidades, con edema y congestión vascular. Hay un aumento del infiltrado en lámina propia, contabilizándose menos de 6 cuerpos apoptóticos en 10 criptas consecutivas. Este término implica la presencia de mínimos hallazgos de RA pero insuficientes para un diagnóstico certero y ausencia de otras enteritis específicas.
- RAC leve (Grado 1): Hay un aumento del infiltrado inflamatorio en lámina propia con 6 o más cuerpos apoptóticos por cada 10 criptas. Además hay cambios reactivos en el epitelio de las criptas con depleción de mucina, basofilia citoplasmática, disminución de la longitud de las células, agrandamiento nuclear, hiper cromasia y aumento de la actividad mitótica. Existen más de 6 cuerpos apoptóticos por 10 criptas. Las vellosidades están achatadas y con distorsión

de la arquitectura, pero conservándose el epitelio de superficie. El nivel de eosinofilia no es criterio aplicable en este tipo de trasplante. Puede haber también edema y congestión vascular (Figura 11 A).

- RAC moderado (Grado 2): Presenta un mayor infiltrado inflamatorio, con apoptosis frecuentes y confluentes (dos o más células en apoptosis dentro de una cripta) y pérdida focal de criptas. Puede haber erosiones en la mucosa de superficie. El grado de distorsión arquitectural, edema y congestión también es mayor que en el grado anterior (Figura 11 B).

- RAC intenso (Grado 3): Existe un daño marcado, con destrucción y pérdida de criptas. También se observa erosión y ulceración que en casos extremos pueden originar una destrucción extensa de la mucosa con pérdida del epitelio de superficie conocida como reacción exfoliativa (144). El infiltrado inflamatorio presenta formas blásticas y activadas de linfocitos junto con neutrófilos y eosinófilos. En los casos graves pueden formarse pseudomembranas. En estos casos es importante intentar identificar áreas de epitelio más conservado para poder identificar elementos característicos del rechazo (Figuras 11 C y D).

No se debe olvidar que estos hallazgos histológicos deben tener una adecuada correlación con la clínica y la endoscopia y que el uso de nuevos tratamientos inmunosupresores e inmunomoduladores está modificando estos hallazgos (120-122).

Una vez establecidos estos criterios, las publicaciones del grupo de Miami aplicándolos, establece: a) que el diagnóstico de indeterminado para rechazo es el más frecuente (40-49%), seguido del RAC leve (Grado 1), b) que las decisiones terapéuticas difieren en función del grado de rechazo establecido, de forma que en los indeterminados no se administra inmunosupresión adicional, en el grado 1 se administraban corticoides y en el 2 y 3 antitimoglobulina o Campath y c) que una de las limitaciones que presenta este sistema es que en casos en los que existe componente humoral asociado, otro tipo de patología inflamatoria (enteritis, SLPT...) o RC, se hace necesario el incorporar otras categorías (145-146).

En el caso del TMV se ha intentado establecer un sistema de graduación del rechazo agudo basado en los hallazgos en las biopsias de mucosa gástrica. En esta las apoptosis y los cambios reactivos son hallazgos indicativos de rechazo. El grado de infiltrado inflamatorio parece ser inferior que en el intestino (147). Dentro de los órganos que componen el injerto

multivisceral se ha estudiado cuál de ellos es más susceptible a presentar RAC, siendo el intestino delgado el que más riesgo muestra (148).

Nuevas líneas de investigación pretenden encontrar nuevos hallazgos claves para el diagnóstico de RA. Entre los hallazgos morfológicos se ha intentado determinar marcadores de apoptosis como el empleo de IHQ dirigida contra la caspasa-3, proteasa implicada en el fenómeno apoptosis celular, no obteniendo resultados satisfactorios (149). También se ha observado que la apoptosis de linfocitos y su fagocitosis parecen ser hallazgos sospechosos de RA junto con la apoptosis de las células epiteliales de las criptas (150). Y la disrupción de la barrera de células plasmáticas de la mucosa intestinal durante el rechazo puede ser un proceso implicado en este complejo fenómeno inmunológico (151). Otras líneas de investigación pretenden hallar marcadores serológicos que puedan ser predictivos de daño del injerto en el contexto de un rechazo y que sean alternativos al procedimiento invasivo que supone la toma de biopsias. La caída de los niveles de citrulina plasmática se relaciona con el daño de la mucosa intestinal, pero parece no ser buen predictor de rechazo. El aumento de los niveles de calprotectina también se relaciona con el daño del rechazo pero tampoco tiene un adecuado valor predictivo. De estos estudios se extrae que la biopsia sigue siendo el método de elección (152).

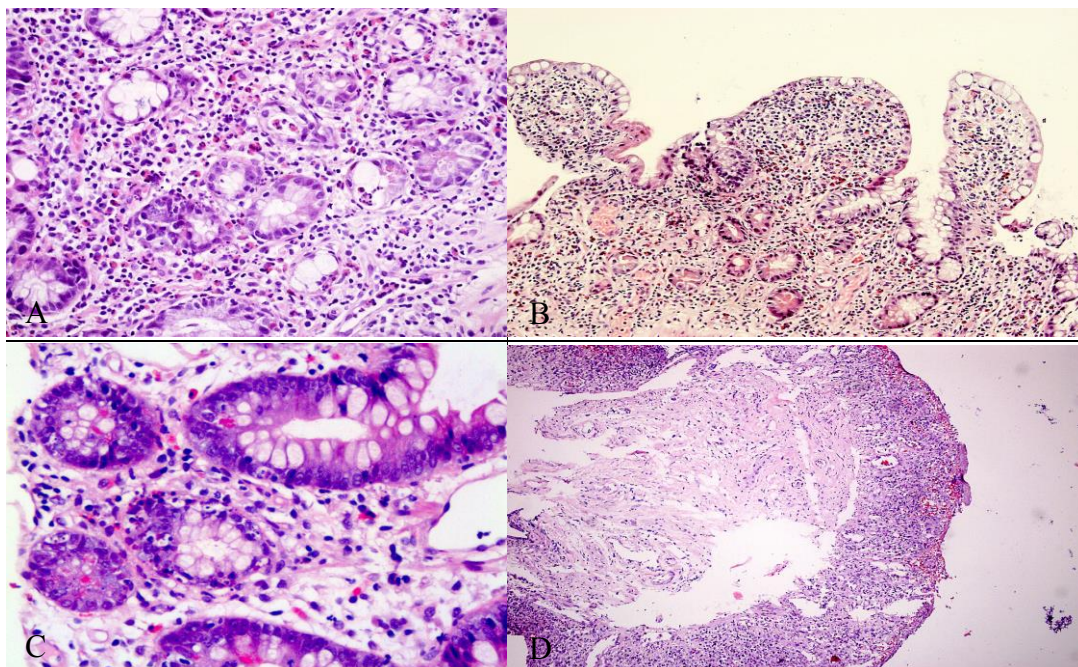


Figura 11. Hallazgos histológicos en los distintos grados de rechazo: RA grado 1(A); RA grado 2 (B) y RA grado 3 (C y D).

Tratamiento del RA:

El tratamiento se va a realizar en función del grado de severidad que presente. El protocolo que se emplea es el siguiente:

- Tratamiento del IRA: Aumento de los niveles de IS basal.

- Tratamiento del RA leve:

Corticoides: Tres bolos de MP de 1 gr. cada uno por vía iv. ó 3 bolos de 500 mg de MP asociado a una pauta de descenso (ver pauta previa en protocolo de IS).

Control endoscópico diario. Si el rechazo persiste, o progresa a un grado mayor, se administra OKT3 durante un período de 2 a 3 días, o se repite la dosis de alemtuzumab.

- Tratamiento del RA moderado-grave:

Se administra de entrada el OKT3 o se repite la dosis de alemtuzumab. OKT3: De 5 a 10 mg/día, por vía iv. por bolos. Según el peso del receptor y la gravedad del rechazo, se administrará durante 7, 10 o 14 días. Hay que recordar que es imprescindible premedicar al paciente antes de administrar el mismo, al menos unos 30 minutos previos a la administración del fármaco. La premedicación se realiza con 1 o 2 gr. de MP el primer día, de 1 a 500 mg de MP el 2º día, y con 50 mg cada 6 horas el tercer día, para posteriormente ir reduciendo progresivamente la dosis de MP, asociando todos los días 650 mg de paracetamol por vía oral más 25 mg de difenhidramina por vía iv. Asimismo, hay que administrar después del OKT3, a las 4 horas aproximadamente del mismo, 500 mg de hidrocortisona por vía iv. el primer día, 250 mg el 2º y 125 mg el 3º, asociando todos los días 650 mg de paracetamol por vo. más 25 mg de difenhidramina por vía iv. Es importante recordar que el tratamiento con este fármaco puede condicionar la aparición de un SLPT. Además, durante todo el ciclo de tratamiento con el OKT3 debe realizarse una profilaxis para posibles infecciones oportunistas, debido al estado de inmunosupresión grave que se produce:

- Profilaxis antiviral anti-CMV, con valganciclovir (Valcyte®) a razón de 900 mg/24 horas vo ajustado según el peso y la función renal, pudiéndose pautar a razón de 450 mg/24 horas.

- Profilaxis frente al *Pneumocystis carinii* o *jirovecii* con trimetropin-sulfametoxazol (Septrim forte®) en dosis de 1 c/día por vo. durante un mínimo de 6 meses. Si existiese alergia al mismo, podemos administrar dapsona (Dapsone®) a razón de 100 mg al día.

Si no responde a esta pauta contra el rechazo se emplea r-ATG durante 5 días y si sigue sin responder se administra una nueva dosis de alemtuzumab (Campath®), o ciclofosfamida a razón de unos 2 mg/kg de peso y día durante un día y otros 9 días más a razón de 1 mg/kg de peso y día, asociado a otros inmunosupresores. Siempre que se administre Campath®, se debe premedicar al paciente 30 minutos antes con 500 mg de MP por vía iv. más 650 mg de paracetamol por vo. y 25 mg de difenhidramina por iv.

Rechazo crónico (RC):

El rechazo crónico es una de las principales causas de disfunción tardía del injerto. De curso insidioso y progresivo, la clínica es poco específica siendo la diarrea el síntoma más frecuente. Los hallazgos endoscópicos pueden mostrar una mucosa de aspecto firme, fibrótica con ulceraciones focales. En los estudios histológicos se puede observar cambios en la mucosa por isquemia, con pérdida de glándulas, distorsión de la arquitectura, apoptosis y fibrosis en lámina propia. El hallazgo clave como ocurre en otros trasplantes de órganos es la vasculopatía de los vasos del injerto con marcada hiperplasia intimal concéntrica con cambios fibrosos, hipertrofia de la media y fibrosis adventicial. Estos cambios se observan más en las arterias medianas/grandes submucosas o mesentéricas por lo que su diagnóstico es más frecuente en biopsias de toda la pared o en injerto fallados (141-142).

Síndrome linfoproliferativo post-trasplante (SLPT):

Los síndromes linfoproliferativos post-trasplante son un conjunto de proliferaciones linfocíticas y plasmacíticas que ocurren en el curso post-trasplante y que frecuentemente, pero no siempre se asocian al VEB. En el caso del TI su incidencia ha disminuido del 15% en adultos y 40 % en niños al 5.1% y 13.2% respectivamente según los datos del Registro Internacional de TI (14,155).

La presentación clínica es muy variable e inespecífica. El injerto, los ganglios linfáticos y el hígado son las localizaciones afectadas con más frecuencia. En el tracto gastrointestinal puede aparecer como ulceraciones y estenosis.

Los factores de riesgo asociados al desarrollo de un SLPT son: primoinfección de VEB en un receptor seronegativo, tipo y duración de la inmunosupresión, tipo de injerto y edad del paciente. La seropositividad para VEB no es un factor protector y se recomienda la monitorización de la serología tanto en pacientes seronegativos y seropositivos (156-157).

La clasificación de la OMS es la utilizada, dividiéndose el SLPT en cuatro categorías (158):

- Lesiones tempranas: son la hiperplasia plasmocítica (HP) y la infección mononucleosis-like. Son proliferaciones linfoides difusas de células plasmáticas e inmunoblastos pero que no distorsionan completamente la arquitectura del tejido.
- SLPT polimorfo: lesiones destructivas compuestas por una población linfoide heterogénea con linfocitos de tamaño intermedio, inmunoblastos y células plasmáticas, que distorsionan la arquitectura nodal o forman masas extranodales.
- SLPT monomorfo: recuerda a un linfoma no- Hodgkin, pudiendo ser las células proliferadas B o T.
- SLPT Linfoma Hodgkin (LH) y LH-like: el diagnóstico debe basarse en hallazgos morfológicos e inmunofenotípicos clásicos (presencia de células de Reed-Sternberg)

La infección por VEB puede asociarse hasta en un 80% de los SLPT en TI. Su presencia puede demostrarse por IHQ, PCR o HIS.

Hallazgos que apoyan que un infiltrado linfoide puede ser tumoral en vez de reactivo son la formación de masas y nódulos expansivos, la presencia de células transformadas, la atipia linfocitaria, el predominio del infiltrado de células plasmáticas o células B, necrosis o presencia de células VEB positivas. Factores que implican un peor pronóstico son el SLPT monomorfo, la negatividad para VEB, la afectación multiorgánica o un estadio avanzado (159-160).

El tratamiento consiste en una reducción de la inmunosupresión, no completa debido al riesgo de rechazo que existe, manteniéndose corticoide y tacrolimus junto con el tratamiento antiviral con ganciclovir e inmunoglobulina intravenosa. Es frecuente que en fases de resolución de un SLPT haya episodios de ataque inmune (Tabla 6).

Tabla 6. Tratamiento del SLPT

Tratamiento del SLPT	
Profilaxis	Ganciclovir si alto riesgo (D/R:+/-)
Tratamiento anticipado	Reducción de la inmunosupresión Ganciclovir +/- Rituximab
Tratamiento de 1ª línea	Reducción de la inmunosupresión Cirugía en casos localizados +/- Rituximab
Tratamiento de 2ª línea	Rituximab QT QT+Rituximab

Enfermedad de injerto contra huésped (EICH):

La enfermedad de injerto contra huésped (EICH) es una enfermedad multisistémica producida cuando los linfocitos T del órgano trasplantado reconocen a los antígenos del receptor como extraños iniciando una respuesta inmune. Descrita inicialmente en trasplantes hematológicos, se ha observado también tras TOS, siendo el TI, el trasplante que mayor incidencia tiene (5.6%). Se divide en una forma aguda y otra crónica en función de su momento de aparición. La forma aguda suele aparecer entre las 2 a 6 semanas post-trasplante. Clínicamente se caracteriza por presentar rash cutáneo, diarrea y un rápido deterioro multisistémico. La mortalidad es elevada, estando entre un 30 y un 75%. El diagnóstico se basa en la clínica, la histología y la detección del microquimerismo en las células T del receptor. En la biopsia cutánea encontramos en la epidermis vacuolización de la capa basal con queratinocitos apoptóticos y un infiltrado linfoide. Se pueden observar las células satélites de la necrosis que consisten en los linfocitos T del donante que están rodeando los queratinocitos necróticos del receptor. En casos graves (grados III y IV) existe necrosis epidérmica completa con eritrodermia. El estudio con inmunofluorescencia revela el depósito de IgM y/o C3. En la mucosa gastrointestinal se observa edema y apoptosis celular junto con un infiltrado linfoplasmocitario y rotura de glándulas (*dropout*). En casos graves se puede producir una denudación completa de la mucosa.

El tratamiento no está claramente establecido, habiendo grupos que defienden aumentar la inmunosupresión, administrar citoquinas y fármacos mielosupresores. Mientras que otros

abogan por una disminución de la inmunosupresión para que el sistema inmune del receptor destruya a las células del donante.

La forma crónica suele aparecer a partir del cuarto mes post-trasplante y puede estar precedida de otros episodios de EICH agudo. La piel es el órgano más afectado pasando de una fase denominada liquenoide caracterizada por un rash eritematoso o violáceo a una escleriforme, en la que la piel adquiere un aspecto de poiquilodermia. En el EICH crónico también puede existir afectación de la mucosa oral (161-162).

DATOS DE TI DE LOS GRUPOS MÁS RELEVANTES:

A la hora de manejar estadísticas primero hay que saber que muchos de los estudios publicados hacen referencia a la población pediátrica, aunque esta situación está cambiando en los últimos años. Y que existen numerosos grupos con sus propias estadísticas. En 1994 se crea el Registro Mundial de Trasplante Intestinal (RTI) que pretende recoger la actividad mundial desde 1985 hasta nuestros días, actualizándose cada 2 años.

Según los datos que reflejaban en su último reporte del 2011, 78 centros tenían acreditación para este tipo de procedimiento, encontrándose 38 activos con 2569 trasplantes, de los cuales el 50% son pediátricos. La mayoría de esta actividad se centra en Norteamérica, seguida por los grupos europeos (14). Los datos publicados por Grant D et al. en el 2003 indicaban una supervivencia global del 60.7% (1238) y a los cinco años superior al 50%. Un 42.3% eran TIA, 33.1% THI y un 24.5% TMV. El 60% de los trasplantes se realizaron en población pediátrica y un 40% en adultos (87). Los datos más actuales indican ahora una supervivencia al año del 80% y a los 5 años superior al 50%. El TIA sigue siendo el tipo de trasplante más frecuente (43.6%), seguido del THI y el TMV en último lugar. La red para la obtención y trasplante de órganos (The Organ Procurement and Transplantation Network – OPTN) publica los datos de Estado Unidos. En los datos publicados en 2009 de los trasplantes realizados entre 1997 – 2007 de 1242 pacientes trasplantados el 78% estaba vivo en el primer año, el 57% a los 5 años y el 44% a los 10 (46). Cai J. analiza la experiencia de Estados Unidos durante 20 años, entre 1990 y 2009. Un total de 1859 trasplantes se realizaron en 43 centros. De ellos el Jackson Memorial Hospital, el Nebraska Medical Center y el Centro Médico de la Universidad de Pittsburg acumulaban cada uno de ellos una experiencia de más de 300 trasplantes realizados. Las tasas de supervivencia al año, cinco años y diez años que indicaban eran del 71, 45 y 32 % respectivamente. El rechazo y la infección eran las causas

más frecuentes de fallo del injerto. Y la infección, el FMO y el rechazo las causas más frecuentes de muerte de los pacientes (163). Mazariegos et al. presentó los datos de Estados Unidos entre 1999-2008. Con 700 pacientes vivos a finales de 2007, mostraba una supervivencia del injerto y del paciente al año del 89 y 79% respectivamente para TIA y del 72 y 69% para THI. Y una supervivencia a los diez años del 46 y 29% para TIA Y del 42 y 38% para THI. El porcentaje de RA que indicaba el primer año era del 40% (47).

A continuación se resumen los datos publicados de los distintos grupos:

- El grupo de Pittsburgh presenta una de las mayores experiencias. Desde 1990 a 2008 han realizado 500 trasplantes en 453 pacientes. En función del protocolo de inmunosupresión empleado dividen este periodo de tiempo en tres eras: la primera (5/90-5/94) con empleo de tacrolimus y corticoides. La segunda (1/95-6/01) con la inclusión de la terapia de inducción con múltiples drogas. Y la tercera (7/01-11/08) con el tratamiento del receptor con tacrolimus en monoterapia. Registran unas supervivencias actuariales al año, 5 años y 10 años del 85, 61 y 42 % respectivamente. Con una tasa de retrasplante del 10% y una mayor supervivencia de los THI (164).
- El grupo de Indiana publicó su experiencia con 43 trasplantes en 13 niños y 30 adultos, con una media de seguimiento de 15 meses, con una supervivencia del 81% y una tasa de rechazo del 69% (165).
- El grupo de la Universidad de Nebraska, comenzó su actividad en 1990, reportando en 2001 su experiencia en 117 trasplantes realizados en 106 pacientes. A los dos años mostraban unas tasas de supervivencia del paciente y del injerto del 82 y 67% respectivamente. El rechazo y la sepsis fueron las dos causas principales de pérdida de injertos y pacientes (95).
- El grupo de Miami, muestra los resultados de 15 años de experiencia en pacientes adultos y pediátricos. Durante 1994 y 2009 realizaron un total de 324 TI en 287 pacientes (111 adultos y 176 pediátricos). De los trasplantes 189 fueron MTV, 75 TIA y 33 THI. Las tasas de supervivencia de los pacientes al año y 5 años fueron del 63,1 y 42,8 % respectivamente y las del injerto del 59,6 y 38,9%. Las infecciones fueron la causa más frecuente de muerte (44,6%) y el rechazo agudo la principal causa de pérdida del injerto (46,8%). sigue siendo la principal complicación (166).

- En Europa uno de los principales grupos en trasplante en adultos es el de Bolonia, que cuenta con una experiencia entre el año 2000 y el 2009 de 43 TI (32 TIA y 11 MTV). Las tasas de supervivencia de los pacientes al año y cinco años fueron del 76 y 52% y la del injerto del 66 y 48% (167).

- En España los resultados de TI son los referentes a TI infantil del Hospital “La Paz”. En él se han realizado 52 TI en 46 pacientes desde 1999 hasta 2009. De éstos 20 eran TIA, 19 THI y 13 TMV. La edad media de los pacientes fue de 32 meses (rango: 7-228 meses). Las causas por las que se trasplantaron estos enfermos fueron SIC en 31, dismotilidad en 6, diarrea intratable en 4 y otras causas en 4. La tasa de RA era del 41%, 2 niños tuvieron RC y 5 de ellos precisaron de un retrasplante. Seis desarrollaron un SLPT y 5 EICH. Después de un seguimiento medio de 38 ± 29 meses, 27 niños estaban vivos incorporados a su vida normal, y de éstos, 24 sin necesidad de NPT. La supervivencia global de su serie, tanto del paciente como del injerto, era del 65 y del 51,7%, respectivamente.

- En Asia, Japón comunica una experiencia de TI en 17 pacientes con unas tasas de supervivencia al año y cinco años del 87 y 69% (168). Y en China se comunica 8 TMV realizados entre 2004 y 2010 (169).

- En Latinoamérica se han registrado un total de 37 TI (32 TIA, 2 THI, 3 TMV), teniendo la Fundación Favalaro de Argentina la mayor actividad registrada con 21 TI en 14 niños y 7 adultos (52).

El TI es un procedimiento aceptado y estandarizado que está logrando supervivencias al año y a los 5 años superiores al 80% con una buena calidad de vida, siendo una opción terapéutica cada vez más válida para pacientes con SIC y complicaciones a largo plazo de la NP (170). Abu-Elmagd KM et al, estudian la supervivencia a largo plazo, la función del injerto y la calidad de vida tras el trasplante durante un seguimiento de 5 años. Comunican que de 376 pacientes 227 sobreviven a los 5 años. Un 90% (160) muestran autonomía digestiva con una adecuada calidad de vida e integración social aunque es necesaria una adecuada adaptación a la condición de trasplantado (39,164). La supervivencia del TMV también ha mejorado, reportándose unas supervivencias al año y a los 3 años del 72% y del 57% respectivamente (171). Los pacientes pueden llevar a cabo una vida autónoma, habiéndose comunicado el caso de un embarazo a término de un varón sano en una paciente con TI (172). También se ha

estudiado el impacto que tiene el retrasplante en estos pacientes, observándose una situación desfavorable en la supervivencia en adultos y niños con retrasplante, comparado con el trasplante primario (173-174).

II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS DE TRABAJO

HIPÓTESIS:

EL ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO E INMUNOHISTOQUÍMICO DE LOS TEJIDOS DE LOS RECEPTORES Y DE SUS INJERTOS PERMITE EL DIAGNÓSTICO Y EL MANEJO DE SUS VARIADAS PATOLOGÍAS.

Las enfermedades del paciente con trasplante intestinal producen una variada morfología macro y microscópica. La observación de esta morfología es susceptible de producir resultados objetivos y reproducibles para los distintos observadores (patólogos) en un estudio de una muestra concreta de injertos intestinales. La morfología de la mucosa intestinal del injerto presenta cambios en relación con la patología que sufre, pudiéndose identificar patrones de lesión que son diagnósticos de cuadros histopatológicos representativos de la etiología y la enfermedad. Otras técnicas especiales como la inmunohistoquímica permiten identificar poblaciones linfoides implicadas en el ataque inmune, síndromes linfoproliferativos post-trasplante y enfermedad injerto contra huésped, así como marcadores tisulares de agentes infecciosos, pudiéndose corroborar algunos de estos últimos por técnicas especiales como la ultraestructura o la hibridación in situ. Contando con la biopsia endoscópica, la biopsia quirúrgica y los tejidos obtenidos en resecciones y en autopsias es posible alcanzar diagnósticos alternativos y/o coincidentes tales como rechazo, síndrome linfoproliferativo, infecciones oportunistas e isquemia.

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN:

Dado que la experiencia mundial es escasa y limitada, es necesario estandarizar, validar y comparar nuestros resultados con los aportados en la literatura. Puede esperarse con ello conocer y mejorar nuestro nivel de calidad en el manejo clínico-patológico de este trasplante. También cabe esperar la categorización de nuevas entidades patológicas, la mayor delimitación y definición de los criterios histológicos que permiten un diagnóstico y con ello la consecución de diagnósticos más precoces y de fiabilidad que beneficien al paciente (tratamiento precoz y menos agresivo, mayor posibilidad de reversión del cuadro, evitar complicaciones secundarias).

Adicionalmente es necesario formar a los propios patólogos y ofrecer experiencia a los futuros implicados en esta actividad.

Objetivo en la indicación de trasplante:

Objetivos e hipótesis de trabajo

- Determinar las patologías pre-trasplante y cuantificar la recidiva de las mismas (enfermedad de Crohn, isquemia intestinal, etc.)

Objetivos en el seguimiento del receptor:

En la indicación de la biopsia intestinal:

Cuantificar las biopsias por injerto intestinal, relacionar sus diagnósticos histopatológicos con la indicación clínica de las mismas (protocolizadas o a demanda) y establecer la idoneidad del protocolo biopsico por la correlación anatomoclínica.

En las patologías post-trasplante:

- Determinar la utilidad de la histopatología en la evaluación de la idoneidad del injerto y del conocimiento de la morfología de inicio (tiempo “0”): cambios de preservación.
- Definir y tabular los variables cambios histológicos que se constituyen en criterios de cada categoría diagnóstica y enumerar los diagnósticos posibles (rechazo, infección, inmunoproliferación, isquemia, etc.) en orden a
- Establecer su incidencia en cada periodo post-trasplante (inmediato, precoz, tardío)..
- Evaluar la metodología más útil (morfología microscópica e inmunohistoquímica y/o hibridación in situ y/o ultraestructura y/o biología molecular) para un diagnóstico concluyente de cada categoría diagnóstica.

En las causas del fracaso (pérdida del injerto/ éxito):

- Describir las lesiones morfológicas en los injertos intestinales fracasados: características macro y microscópicas, prevalencia, distribución cronológica, evolución.
 - Valorar las lesiones identificadas como posibles factores etiológicos del fracaso, indicaciones de retrasplante y causas de muerte.

III. DISEÑO Y METODOLOGÍA

DISEÑO:

Se ha realizado un estudio retrospectivo, longitudinal y fundamentalmente descriptivo de las distintas variables y resultados obtenidos a través de una observación exhaustiva del total de los tejidos estudiados histológicamente, procedentes de la población de pacientes adultos sometidos a trasplante intestinal.

METODOLOGÍA:

Población de estudio:

Pacientes sometidos a trasplante intestinal desde la realización del primer trasplante (diciembre de 2004) hasta la fecha de cierre de la serie (abril de 2011) en el Programa de Trasplante de Órganos Abdominales del Hospital 12 de Octubre.

Las indicaciones de TI en el Hospital 12 de Octubre son:

El TI se indica en aquellos pacientes portadores de una insuficiencia intestinal crónica e irreversible, dependientes de la NPT de por vida y que cumplen al menos uno de los siguientes criterios:

1. Ausencia de accesos venosos centrales (habitualmente por trombosis) para continuar con la administración de la NPT.
2. Episodios reiterativos de sepsis y/o sepsis que amenaza seriamente la vida del paciente en relación con la administración de NPT. Se consideran sepsis frecuentes a los siguientes situaciones: 2 o más episodios de sepsis en un año o 1 episodio de fungemia, shock séptico y/o síndrome de distrés respiratorio del adulto que requiera ingreso en una Unidad de Cuidados Intensivos.
3. La presencia de patología de base con pérdidas hidroelectrolíticas potencialmente mortales por deshidratación en caso de interrupción de la NPT
4. En presencia de enfermedad hepática asociada a la administración de NPT (EHANPT), caracterizada por la presencia de colestasis con o sin fibrosis o con o sin cirrosis hepática. Globalmente, se consideran criterios de EHANPT: hiperbilirrubinemia (> 3 mg/dl) y/o hipertransaminemia y/o elevación de los enzimas de síntesis, esplenomegalia, trombopenia, coagulopatía, hemorragia a través del estoma, fibrosis hepática y cirrosis)

Etiología de la insuficiencia intestinal crónica en el hospital 12 de octubre:

Las circunstancias que conducen al fracaso intestinal irreversible son el síndrome de intestino corto (SIC) y el síndrome de malabsorción intestinal. Estos a su vez pueden estar provocados por: isquemia mesentérica arterial o venosa, vólvulos, hernias, traumatismos abdominales, enfermedad de Crohn, complicaciones de cirugía bariátrica y otros procedimientos, tumores desmoides irresecables o enteritis radica.

Selecci3n de los receptores:

El estudio preoperatorio de cada candidato se hace según el siguiente protocolo:

1. Historia clínica. Realizada por el cirujano, gastroenter3logo y endocrin3logo.
2. Exploraci3n física general. Valoraci3n del estado nutricional, estomas cutáneos, laparostomıas, etc.
3. Exploraci3n neurol3gica.
4. Exploraci3n cardiol3gica. Valoraci3n de la radiografía de t3rax, ECG, prueba de esfuerzo con Talio o ecocardiografía de esfuerzo o con dobutamina y coronariografía en caso de sospecha de cardiopatía isquémica y de las necesidades de cada enfermo.
5. Exploraci3n vascular periférica. Examen de miembros (pulsos y doppler, angio-RM o arteriografía si presenta indicaci3n).
6. Exploraci3n digestiva. Valoraci3n de la neuropatía vegetativa (clínica y vaciamiento gástrico isot3pico), endoscopia alta completa, ileoscopia, colonoscopia si procede y estudios baritados altos y bajos.
7. Ecografía abdominal para descartar patología biliar.
8. Angio-TAC aorto-ilíaco con reconstrucci3n coronal. Esta prueba suple a la arteriografía y sirve para detectar posibles placas de ateroma que podrían impedir la realizaci3n del trasplante, además de dar informaci3n acerca de la patología de base del enfermo (tumores desmoides).
9. Exploraci3n dental. Ortopantomografía.
10. Otras exploraciones. Mamografía en mujeres > 35 años, etc.

11. Pruebas de laboratorio:

- Valoración de la diabetes: Anticuerpos anti-insulina y anti-isletos, glucemia basal y niveles de péptido C y hemoglobina glicosilada.
- Análisis sistemático de sangre, estudio de coagulación y de hipercoagulabilidad.
- Electrolitos, creatinina, amilasa, lipasa, lípidos, proteinograma, determinaciones de parámetros nutricionales (prealbúmina, transferrina, RBP, ácido fólico, vitamina B 12 y zinc) y gasometría arterial.
- Análisis de orina (recolección de 24 horas): cultivo, aclaramiento de creatinina y proteinuria.
- Hemocultivos.
- Serología: hepatitis B y C, VIH, VEB, VHS, VVZ, CMV, toxoplasma, sífilis (VDRL) y prueba de Mantoux.
- Estudios de histocompatibilidad: Grupo ABO, Rh, tipaje HLA, anticuerpos citotóxicos anti-HLA y cross-match.

12. Valoración del riesgo anestésico: Parte de interconsulta a Anestesiología

Los estudios específicos de los receptores de un injerto intestinal son:

- La determinación de CD55 y CD59 (si están bajos existe riesgo de desarrollar síndrome hemolítico urémico al dar alemtuzumab en la inducción)
- Esófago-Gastro-Duodenoscopia
- Colonoscopia (solo si existe colon para explorar)
- Ileoscopia (si existe ileostoma)
- Tránsito gastrointestinal baritado
- Enema opaco (solo si existe colon remanente)

Y otros que se realizan según determinadas circunstancias:

- Test de motilidad gastro-intestinal

- Hormonas del tracto gastro-intestinal

El protocolo de inmunosupresión manejado se basa en la inducción con anticuerpos anti-CD52 (alemtuzumab) y la inmunosupresión de mantenimiento con tacrolimus, asociando o no corticoides en caso de aparición de rechazo. Se recurre a los corticoides sólo ante la evidencia de un RA probado por diagnóstico histológico y obtenido por biopsia endoscópica. En tal caso se utiliza una pauta de inicio y un descenso progresivo hasta la retirada de los mismos lo antes posible.

Selección de los donantes:

Los criterios de selección de donantes fueron: Edad menor de 40 años (máximo de 45 años), estancia menor de 7 días en la UCI, estabilidad hemodinámica (entendiéndose ésta como una diuresis horaria superior a los 100 mililitros por hora, una TAS por encima de 120 mm Hg, una saturación arterial de oxígeno por encima del 95%, y una presión parcial de oxígeno mayor de 100 mm Hg con una FiO₂ del 100% y una PEEP menor de 5 mm Hg), ausencia de hipotensión prolongada (entendiéndose ésta como una TAS menor de 80 milímetros de mercurio), ausencia de parada cardiorrespiratoria, tamaño del donante entre el 50% y el 75% del tamaño del receptor (para evitar, en la medida de lo posible, la pérdida de derecho a domicilio, que se evidencia aún más debido al edema por la isquemia reperfusión), grupo ABO idéntico, preferiblemente con una serología para CMV negativa, estudio de *crossmatch* linfocitotóxico donante-receptor negativo, una isquemia fría no superior a 8 horas.

Edad, sexo, peso y talla del donante:

Los límites de edad aceptados han sido entre 5-50 años, aunque son preferibles los injertos de donantes < 45 años. No se ha establecido distinción para la aceptación en función del sexo del donante. El peso y la talla no se consideran “per se” criterios de exclusión, contabilizándose en kg y en cm, respectivamente. Se tiene en cuenta el IMC con el fin de aparearlos con los receptores.

Causas de muerte del donante: Las causas de muerte de los donantes se han clasificado en:

- Traumatismo cráneo-encefálico.
- Hemorragia cerebral por malformaciones arterio-venosas.
- Accidente cerebro-vascular isquémico.

- Agresiones.

Serología viral: En todos los donantes se determinó la serología para el VIH, VHC, VHB y CMV. Se consideró como criterio de exclusión la presencia de infección por VIH o por VHB o VHC

Fuentes de información:

- Documentación clínica (historias clínicas, protocolos de quirófano).
- Intranet hospitalaria: informes de alta, analíticas, radiología, microbiología, inmunología, cuidados intensivos, etc.
- Informes de Anatomía Patológica de los estudios histológicos, autópsicos y técnicas especiales realizadas.
- Revisión al microscopio de los estudios histológicos y de las técnicas especiales almacenadas en los archivos de preparaciones y de muestras.

Variables recogidas:

Variables de los receptores:

1. Edad: se considera la edad del paciente, medida en años, en el día de la intervención.
2. Sexo: variable dicotómica que define el sexo del paciente (hombre/mujer).
3. Indicación de trasplante: define la causa que origina la enfermedad de base de la insuficiencia intestinal crónica. Se diferencia entre las causas vasculares (isquemia intestinal aguda o crónica y trombosis venosa), la enfermedad de Crohn, la poliposis adenomatosa familiar (PAF) / síndrome de Gardner (presencia de tumores desmoides mesentéricos con compromiso de estructuras adyacentes), resecciones intestinales masivas secundarias a traumatismos, síndromes de hipercoagulabilidad, tumores del estroma gastrointestinal (GIST) y otras etiologías.
4. Tipo de trasplante: dos de los tres tipos fundamentales de TI, trasplante intestinal aislado (TIA) y trasplante multivisceral (TMV). Hasta la fecha no se ha realizado ninguno combinado hepato-intestinal.

5. Días post-trasplante: número de días de seguimiento de los injertos desde el análisis de la primera biopsia recibida (día 1º) hasta el cierre de la serie o el explante del injerto o el éxito del paciente. Se recoge el día de diagnóstico post-trasplante de cada patología, sus tiempos de evolución y de resolución.

6. Serología viral: Se recogió la serología CMV en el donante y en el receptor y la serología de VEB en el receptor.

Variables del estudio histológico:

7. Especimen histológico: se denominó así a todas las muestras recibidas y estudiadas en el Servicio de Anatomía Patológica a las que se le realizó informe anatomopatológico en base a su sustrato histológico.

8. Especímenes totales: número de estudios histológicos totales realizados, incluyendo las biopsias propias del injerto, otras localizaciones anatómicas diferentes a este, los estudios autópsicos, los injertos explantados y los órganos nativos del receptor resecados durante la cirugía.

9. Biopsias de injerto: número de estudios histológicos exclusivos del injerto trasplantado.

10. Biopsias no injerto: estudios histológicos del receptor procedentes de otras localizaciones anatómicas distintas al injerto.

11. Número de estudios IHQ realizados.

12. Número de estudios HIS realizados.

13. Categorías diagnósticas: complejos lesionales en base a los cuales se realiza el diagnóstico anatomopatológico.

14. Tiempo de supervivencia del injerto: tiempo transcurrido en días desde el implante hasta el momento de su fracaso, muerte del paciente o cierre de la serie.

15. Tiempo de supervivencia del enfermo: tiempo transcurrido en días desde el momento del trasplante hasta cierre de la serie o el fallecimiento del paciente.

16. Número de injertos por paciente: número de trasplantes intestinales realizados en un mismo paciente

17. Frecuencia de cada tipo de patología en la serie y por paciente.
18. Frecuencia y tipos de patologías coincidentes en el tiempo y en el enfermo.
19. Tipos de patologías que condujeron al fracaso del injerto.
20. Tipos de patologías que condujeron al fallecimiento de paciente.

Variables relacionadas con la técnica quirúrgica:

21. Tiempo de isquemia fría: tiempo transcurrido en minutos desde el pinzamiento de la aorta en el donante e inicio de la perfusión hasta que se colocó el injerto en el campo operatorio para realizar el implante.

Análisis de los datos:

Creación y desarrollo de una base de datos Excel y manejo estadístico con el programa SPSS.

Debido a las características de la población de estudio ($n=17$) se han empleado las denominadas pruebas no paramétricas. Se denominan así a aquellas pruebas estadísticas que no presuponen una distribución de probabilidad para los datos, por ello se conocen también como de distribución libre. El uso de pruebas no paramétricas está indicado en variables que no siguen las condiciones de parametricidad (variables cuantitativas continuas, distribución normal de las muestras, varianzas similares y tamaño de las muestras, mayor a 30 casos). Los resultados estadísticos se derivan de procedimientos de ordenación y recuento. Se emplean cuando se trabaja con muestras pequeñas ($n<30$) en las que se desconoce si es válido suponer la normalidad de los datos (175-1756).

Estadística descriptiva:

La estadística descriptiva examina a todos los individuos de un conjunto para luego describir e interpretar numéricamente la información obtenida. Sus métodos están basados en la observación y el recuento. Se pretende, una vez realizados, poder simplificar los datos observados para obtener de ellos una información lo más completa posible del total de la población. En estadística descriptiva el material de trabajo lo constituyen los datos, que son los resultados de las observaciones. Una vez obtenidos los datos, estos se han ordenado y clasificado de modo que sea posible una visión crítica de los mismos.

El tratamiento de los datos recopilados ha sido:

- 1) Construcción de tablas para ordenar y clasificar los datos.
- 2) Realización de gráficos para representar físicamente los datos.
- 3) Obtención de estadísticos o funciones de los valores de los datos, que pretenden poner de manifiesto ciertas propiedades de los mismos:
 - Estudio de la frecuencia y distribución de cada variable.
 - Medidas de tendencia central: indican donde se sitúa un dato dentro de una distribución de datos. Media (promedio de un conjunto de números, obtenida sumando todos los números y dividiéndola entre n) y mediana (valor que ocupa el lugar central si se colocan ordenados de menor a mayor).
 - Medidas de dispersión (indican si los datos están próximos entre sí o si están alejados): varianza y desviación típica (medida que informa de la media de distancias que tienen los datos respecto de su media aritmética).

Estudio comparativo de nuestros resultados con los aportados en la literatura por otros equipos de trasplante intestinal.

Estadística inferencial:

La estadística inferencial o inductiva trata de llegar a conclusiones que sobrepasan el alcance de los datos analizados; es decir, se trata de técnicas que se emplean para inferir o deducir características desconocidas a partir de un conjunto de datos conocidos, apoyándose fundamentalmente en el cálculo de probabilidades.

Coefficiente rho de Spearman (ρ): Es un coeficiente para medir el grado de asociación entre dos variables ordinales cuyos valores indican rangos en cada una de ellas. Se emplea en muestras menores de 20. La interpretación de coeficiente de Spearman es igual que la del coeficiente de correlación de Pearson. Oscila entre -1 y +1, indicándonos asociaciones negativas o positivas respectivamente, 0 cero, significa no correlación pero no independencia. Rho toma el valor +1 cuando existe igualdad de rangos de los casos en las dos variables y -1 cuando tienen rangos exactamente opuestos. Los valores intermedios pueden ser interpretados según sus magnitudes relativas.

Método de Kaplan-Meyer: estimador no paramétrico de la función de supervivencia. La probabilidad de supervivencia se puede estimar de manera basándose en los tiempos de observación hasta que sucede un evento entre los elementos censurados y los no censurados.

IV. PACIENTES, MATERIAL Y MÉTODOS

PACIENTES:

En este estudio se han incluido los pacientes adultos (mayores de 18 años) que han sido sometidos a un trasplante intestinal aislado (TIA) o multivisceral (TMV) y de los que se ha recibido algún tipo de espécimen para estudio histopatológico en el Servicio de Anatomía Patológica.

Características globales de la serie de pacientes y del material tisular:

Entre Diciembre de 2004 y abril de 2011 (77 meses) se han realizado 17 trasplantes intestinales en 15 receptores adultos, 46,7% mujeres y 53,3% hombres. La edad media fue de 43 años (la mediana fue de 38, el mínimo de 30 y el máximo de 64 años). El 75,5% de los injertos fueron TIA y 23,5% MTV, hasta la fecha de hoy no se ha realizado ningún THI. El tiempo medio de seguimiento de los pacientes ha sido de 742,76 días (mediana: 649, mínimo 0, máximo: 2140). La indicación más frecuente de trasplante ha sido el SIC secundario a patología isquémica intestinal por diferentes procesos, representando el 41%. El síndrome de Gardner con fibromatosis mesentérica ha sido la segunda indicación más frecuente siendo el 23%. El RA refractario y el traumatismo abdominal representaron cada uno el 12% y la enfermedad de Crohn y el síndrome de Budd-Chiari el 6% cada uno (Gráfico 3).

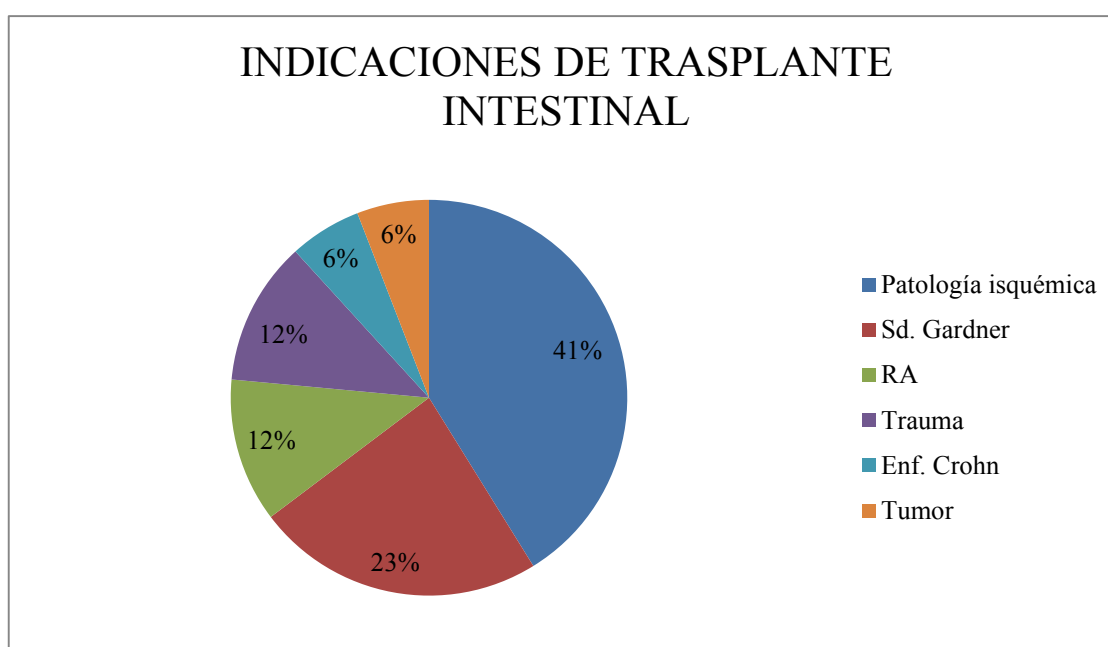


Gráfico 3. Principales indicaciones de TI de los pacientes trasplantados entre 2004-2011

La serología para CMV donante/receptor fue R+/D+ en el 65 %, R-/D+ en el 12%, R+/D- en el 18% y R-/D- en el 5% de los trasplantes (Gráfico 4). Y la serología para VEB fue positiva en todos los donantes y receptores, salvo un caso, en que fue negativa tanto en donante como en receptor.

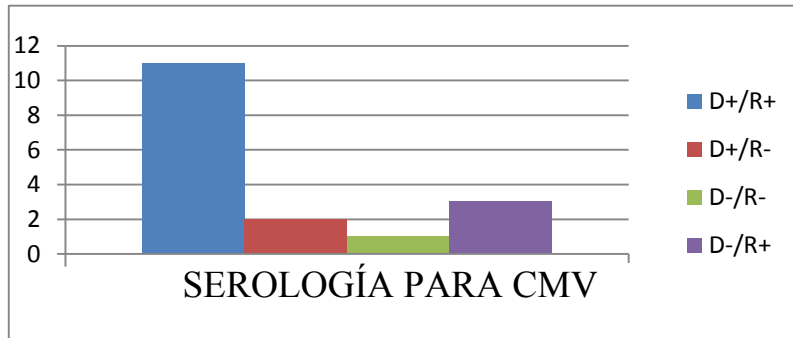


Gráfico 4. Serología de CMV.

Distribución de especímenes:

Durante el seguimiento de los pacientes se han generado un total de 951 especímenes histológicos (media por injerto: $55,8 \pm 30,7$). De los cuales el 91,6% (871) ha correspondido a biopsias endoscópicas del injerto, con una media por injerto del $51,2 \pm 28$. El 6,8% (65) ha correspondido a biopsias no intestinales, el 0,8% ($n = 8$) a piezas de resección y evisceración abdominal de los órganos nativos, realizadas durante la cirugía de trasplante en los receptores y el 0,7 % ($n = 7$) restante a cinco injertos explantados obtenidos por resección y a dos estudios necrópsicos (Gráfico 5). Ocho resecciones de órganos abdominales nativos no fueron estudiadas en nuestro laboratorio debido a que los pacientes acudieron al Hospital 12 de Octubre posteriormente a su resección en otros Centros. El número de estudios complementarios histopatológicos (inmunohistoquímicos, hibridación in situ, ultraestructurales) necesarios en la evolución y en el diagnóstico del paciente han sido un total de 103, de los cuales 81 han correspondido a IHQ (29,6% han sido para la tipificación del infiltrado inflamatorio en los casos de sospecha de SLPT y 70,4% para la detección de CMV), 19 de HIS y 3 ultraestructurales (todos ellos correspondientes a biopsias enteroscópicas).

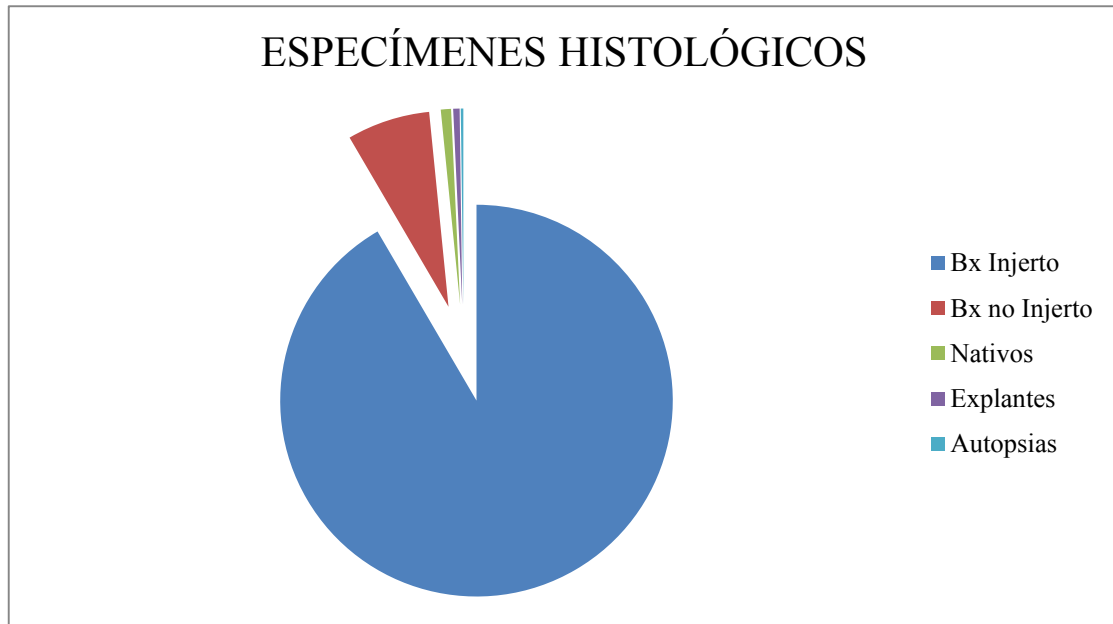


Gráfico 5. Distribución de la procedencia anatómica de los distintos especímenes histológicos estudiados

De la patología que indicó el trasplante se han estudiado los órganos nativos de ocho pacientes: cinco sometidos a TIA y tres a TMV (Figura 12). De los cinco para TIA, en tres se ha realizado el diagnóstico histopatológico de fibromatosis mesentérica en el contexto de una PAF (Figura 13), en otro de enfermedad de Crohn sin actividad (Figura 14) y en el último de dilataciones fusiformes saculares de asas intestinales con úlceras y fisuras con desarrollo de tejido de granulación e hipertrofia de la capa muscular propia compatible con vólvulos intermitentes y SIC (previamente había sido resecado un segmento intestinal en otro Centro con un tumor benigno del estroma intestinal causante del síndrome de vólvulo intermitente).

De los tres casos para TMV en uno se diagnosticó síndrome de Budd-Chari con trombosis portal y de las venas mesentéricas, secundario a policitemia vera. En otro se observó hepatopatía fibrosa con cambios compatibles con hipertensión portal (HTP) no cirrótica y trombosis portal suboclusiva secundaria a esquistosomiasis (Figura 15). En el último paciente se diagnosticó esteatohepatitis y fibrosis hepática leve con infarto esplénico y trombosis de las ramas de la arteria mesentérica.

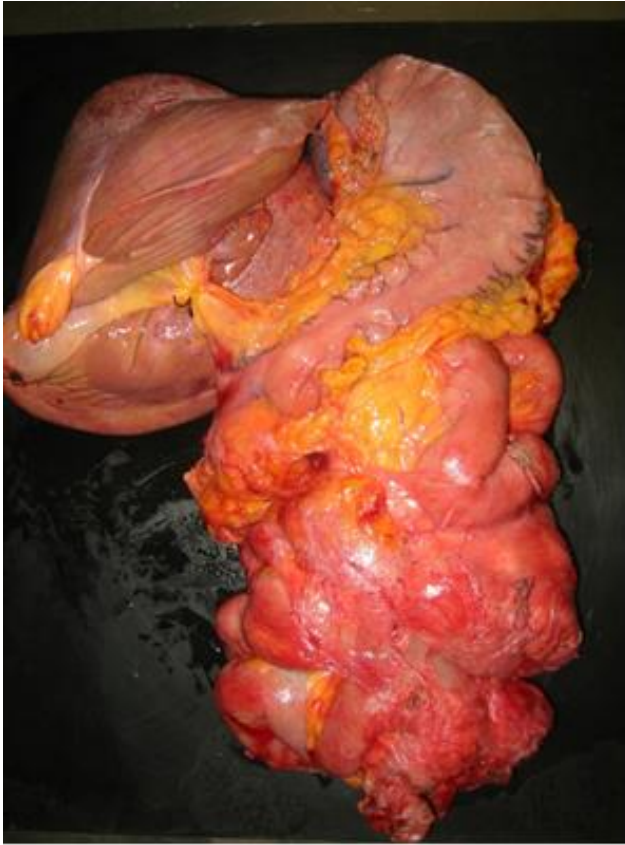
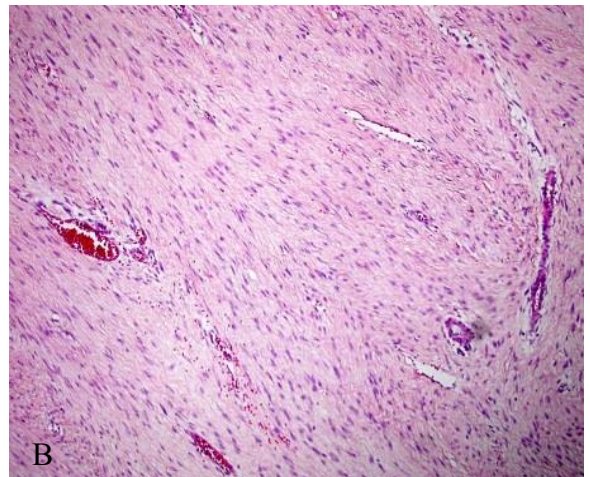


Figura 12. Pieza de exenteración abdominal para la realización de un TMV.



A



B

Figura 13. Pieza de resección intestinal con tumor desmoide mesentérico (flecha): estudio macro (A) y microscópico (B)



Figura 14. Pieza de resección intestinal con EII tipo Enfermedad de Crohn.

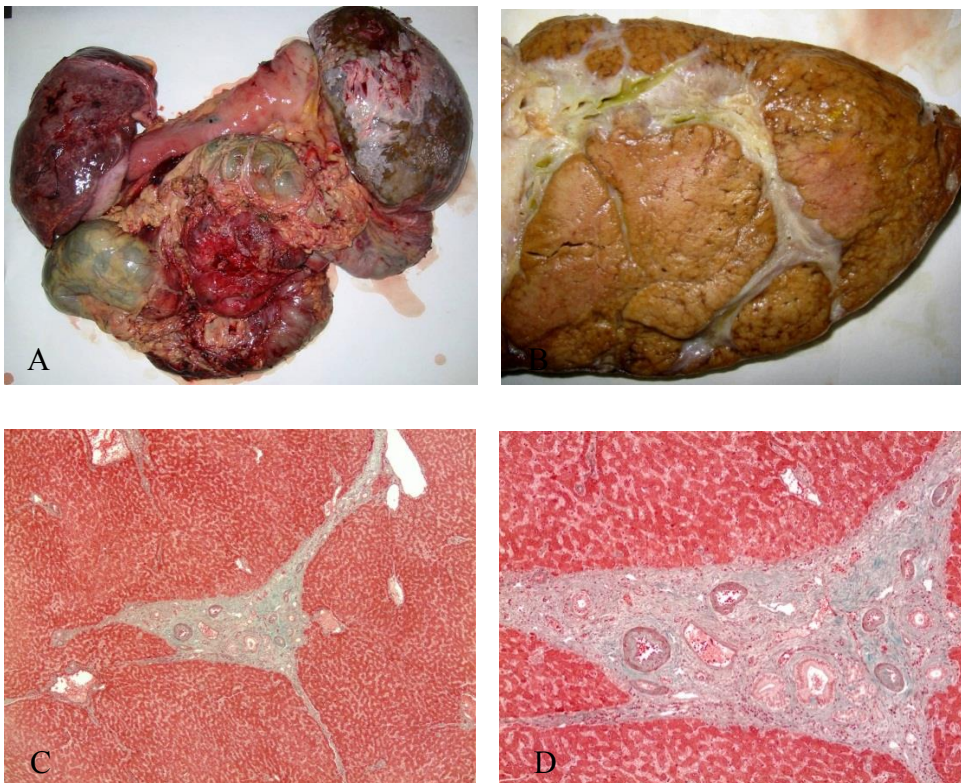


Figura 15. Pieza de exenteración abdominal (A) con hepatopatía fibrosa secundaria a esquistosoma: estudio macro (B) y microscópico (C y D).

Las biopsias de injerto se realizaron de forma protocolizada para el control del injerto y del paciente o se tomaron en todas aquellas situaciones en que se sospechó o existió alguna anomalía. La distribución de las biopsias por paciente y por tiempo de seguimiento está reflejada en los gráficos 6 y 7. Se observó una correlación positiva estadísticamente significativa ($\rho = 0.819$, $p = 0.01$) entre el número de días de seguimiento y el número de biopsias realizadas sobre injerto

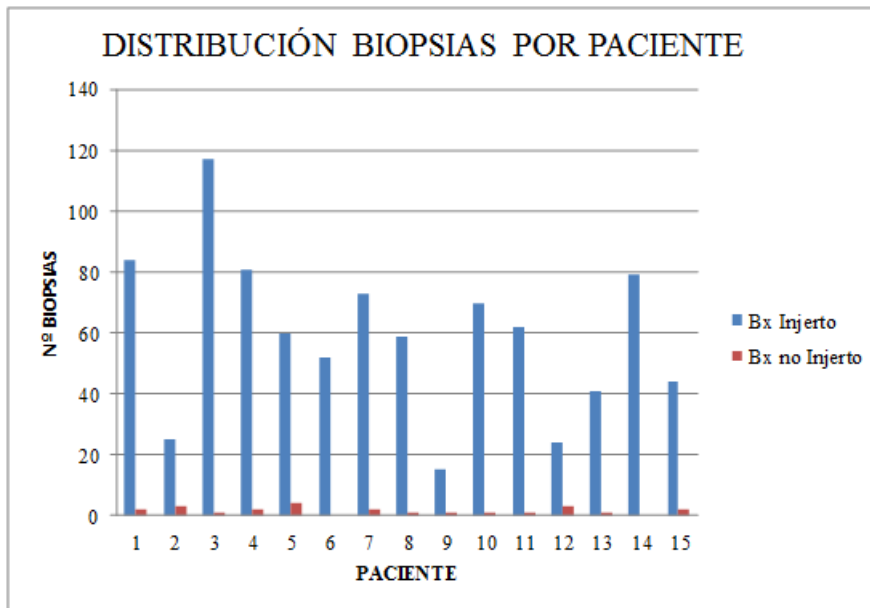


Gráfico 6. Distribución de las biopsias de injerto y las que no eran de injerto por paciente.

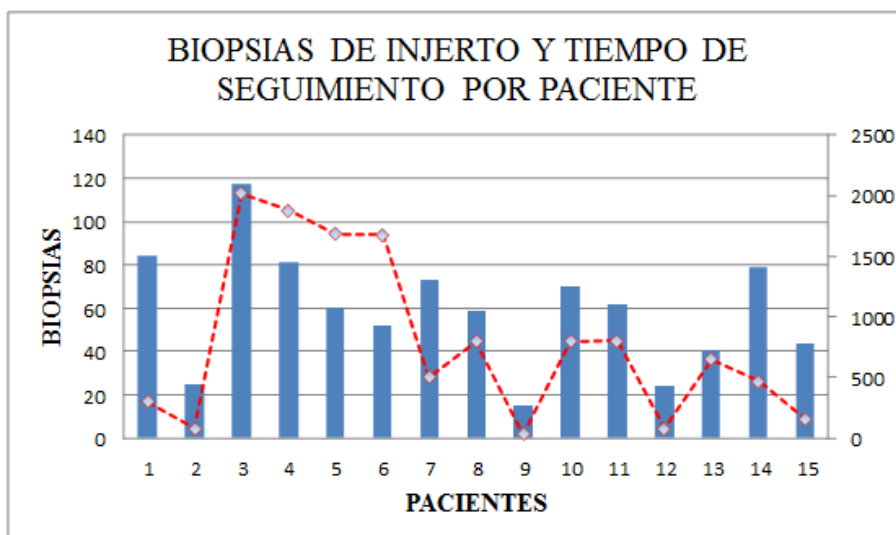


Gráfico 7. Relación entre las biopsias de injerto de cada paciente (barras azules) y el tiempo de seguimiento de cada uno (línea discontinua roja).

MATERIAL PARA ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO:

Durante el seguimiento de los pacientes se han estudiado especímenes histológicos remitidos al Servicio de Anatomía Patológica como: biopsias endoscópicas del injerto, biopsias no intestinales, piezas de resección y evisceración abdominal de los órganos nativos realizadas durante la cirugía de trasplante en los receptores, injertos explantados obtenidos por resección y estudios necrópsicos. Ocho resecciones de órganos abdominales nativos no fueron estudiadas en nuestro laboratorio debido a que los pacientes acudieron al Hospital 12 de Octubre posteriormente a su resección en otros Centros.

Las biopsias de injerto se realizaron de forma protocolizada para el control del injerto y el paciente o se tomaron en todas aquellas situaciones que se sospechó o existió alguna anomalía (Tabla 7). Las biopsias intestinales aportaron un número mínimo de criptas (más de 20) y fueron suficientemente profundas incluyendo muscularis mucosae y submucosa superficial. Se remitieron en envases separados y se exigió para su inclusión en este estudio:

- 3 tomas del íleon (a 20 cm o más desde la ileostomía). 3 a 10 cm de la ileostomía.
- En caso de sospecha de enfermedad injerto contra huésped se tomaron biopsias del intestino nativo (duodeno).
- De la anastomosis cuando se había realizado la reconstrucción o cuando se alcanzó por duodeno.
- De aquellas topografías que el endoscopista consideró anormales.

Los datos clínicos que se constataron en la petición de informe histopatológico y fueron:

- Signos y síntomas: asintomático, diarrea, fiebre, alteración del flujo del estoma, sangrado, ascitis, aumento de niveles séricos de VEB, otros.
- Características del lugar de la toma: normal o con lesión (eritema, patrón granular mucoso, disminución de peristalsis, nodularidad, erosiones-ulceraciones (indicando si son sospechosas de biopsias previas o son “de novo”), placas de Peyer, pseudomembranas, disminución de pliegues).
- Sugerencia/s diagnóstica/s.

Tabla 7. Tipos de biopsias de injerto intestinal y sus indicaciones

TIPOS DE BIOPSIAS DE INJERTO INTESTINAL	
Biopsias protocolizadas	Biopsias no protocolizadas (a demanda)
Biopsia intraoperatoria (tiempo 0) inmediata tras reperfusión (evaluación de daño de preservación)	Diagnóstico incierto o equívoco en cualquier biopsia de protocolo (repetición)
A los 2-3 días (descartar daño de perfusión hemática)	De seguimiento de rechazo agudo tras este diagnóstico (cada 2-3 días)
2-3 biopsias / semana el primer mes	Ante cualquier cambio clínico (fiebre, variación del flujo por el estoma, sangrado)
1 biopsia / semana en el 2º y 3º mes	Ante cualquier cambio en la inmunosupresión (basal y dos veces /semana)
1 biopsia / quincena en el 4º y 5º mes	Sospecha de síndrome inmunoproliferativo, de enfermedad injerto contra huésped
1 biopsia / mes hasta el año (cierre de ileostomía)	
1 biopsia / trimestre en el 2º año	
1 biopsia / semestre en el 3º año	
1 biopsia /año a partir del 4º año	

Procesamiento histológico de especímenes y técnicas histológicas:

Se denomina **proceso histológico** a la serie de métodos y técnicas utilizados para poder estudiar las características morfológicas y moleculares de los tejidos. La mayoría de las técnicas histológicas van encaminadas a preparar el tejido para su observación con el microscopio. Se denominan **técnicas histológicas post-vitales** a aquellas en las que las células mueren durante el proceso, pero las características morfológicas y moleculares que poseían en estado vivo se conservan. El proceso histológico comienza con la obtención del tejido objeto de estudio. Una vez obtenida la muestra esta se fija con unos soluciones líquidas que contienen sustancias que mantienen las estructuras celulares y moleculares en sus posiciones iniciales durante el procesamiento posterior (fijadores). Tras la fijación se procede a incluir el tejido, esto se consigue embebiendo el tejido con sustancias líquidas que posteriormente polimerizarán (resinas) o se volverán consistentes (ceras). Los medios de inclusión son normalmente no hidrosolubles por lo que tenemos que sustituir el agua de los tejidos por solventes orgánicos liposolubles y posteriormente añadir el medio de inclusión. Tras la inclusión se procede a cortar los tejidos. Estas secciones hay que procesarlas para poder observarlas siendo necesaria su tinción con colorantes (177-178).

En el caso de las biopsias endoscópicas de injerto intestinal el objetivo es obtener preparaciones teñidas en 4-5 horas desde la recepción de los especímenes en el laboratorio, para realizar un diagnóstico histológico lo más precoz posible. Para ello se utiliza rutinariamente la técnica de inclusión rápida en parafina (método de Larrauri J. y Burgos E.). Esta debe hacerse utilizando horno de microondas SANYO EM-S103 y recipientes de 200 cc para sumergir las cápsulas previamente nominadas.

Consta de los siguientes pasos:

- Fijación: Fijar un tejido es preservar sus características morfológicas y moleculares lo más parecidas posibles a las que poseía en estado vivo. Los tejidos, cuando se extraen del organismo sufren dos tipos de procesos degradativos: autólisis (acción de enzimas intracelulares, es decir, autodigestión) y putrefacción (acción bacteriana). Además, el procesamiento histológico posterior del tejido para poner de manifiesto y observar determinadas estructuras supone una metodología que puede degradar las estructuras tisulares. El fijador químico empleado es **formaldehído** a concentraciones próximas al 10 %. Actúa mediante la formación de puentes entre las moléculas tisulares. Las características que tiene

son: actúa como conservante, produce poca retracción tisular, es un buen fijador para lípidos, es compatible con la mayoría de las tinciones histológicas, incluidas las de inmunocitoquímica e hibridación de ácidos ribonucleicos. La técnica empleada en las biopsias es fijar en formol durante 35 minutos en el horno microondas a 100 vatios.

- Inclusión: es el método más común de endurecer el tejido y consiste en infiltrar la muestra con sustancias líquidas que tras un proceso de polimerización o enfriamiento se solidifican, sin afectar a las características del tejido. Con ello se consigue obtener cortes delgados sin que el tejido se rompa o se deteriore. Además son un buen método de preservar las muestras durante largos periodos de tiempo. Cuando se quieren hacer secciones para la observación con el microscopio óptico los medios de inclusión más frecuentemente usados son la parafina o la celoidina. La mayoría de los medios de inclusión no son hidrosolubles, es decir, no miscibles con el agua, luego si queremos que la sustancia en la que vamos a incluir ocupe todo el tejido tenemos que eliminar el agua de este y sustituirla por un líquido miscible con nuestro medio de inclusión. Este proceso de deshidratación se realiza con alcoholes a distintas concentraciones. La técnica empleada (programa de 35 minutos) consta de los siguientes pasos:

1. Alcohol de 70° durante 5 minutos a 100 vatios
2. Alcohol de 96° durante 5 minutos a 100 vatios
3. Alcohol absoluto durante 5 minutos a 100 vatios
4. Xilol durante 5 minutos a 100 vatios
5. Primera parafina (en pirex) durante 5 minutos a 300 vatios
6. Segunda parafina durante 10 minutos a 300 vatios

- Realización de bloques y cortes a 3 micras: Tras la inclusión de la muestra se vierte parafina líquida en un molde, se introduce la muestra y se coloca según la orientación deseada de corte y se deja solidificar a temperatura ambiente. Posteriormente se obtienen secciones micrométricas empleando aparatos de corte especiales. El aparato de corte más usado tradicionalmente para material incluido en parafina y observaciones con el microscopio óptico es el micrótomo.

- Tinción: La mayoría de los tejidos son incoloros y por ello necesitamos teñirlos para observar sus características morfológicas. Las tinciones generales están basadas en el uso de colorantes. Estos son normalmente hidrosolubles y se caracterizan por unirse a ciertas moléculas presentes en los tejidos gracias a afinidades químicas. Se utilizan para teñir a las células y componentes tisulares que van a ser observados con el microscopio óptico y por ello se realizan habitualmente sobre secciones de tejido obtenidas a partir de inclusiones en parafina. Las tinciones manejadas son las rutinarias de laboratorio (HE e histoquímica) y las que se realizan para técnicas especiales:

a) Histológicas:

- Hematoxilina-eosina: Una de las tinciones más usada en histología sobre cortes de parafina. Usa un colorante básico y otro ácido para teñir de diferente color a las estructuras ácidas y básicas de la célula. Los núcleos aparecen de color violáceo (hematoxilina) y el citoplasma de color rosado (eosina).

- PAS: Se utiliza para la detección de hidratos de carbono, libres o conjugados, en los tejidos cuando están en cantidades relativamente grandes. Esta tinción nos permite apreciar a las células caliciformes de la mucosa intestinal teñidas de rosado por su alto contenido en mucopolisacáridos. También se emplea para la detección de microorganismos (hongos y amebas).

- Tricrómico de Masson: permite evaluar el tipo y cantidad de material extracelular. Empleado para la valoración de fibrosis.

- Reticulina: demuestra fibras reticulares y material de membrana basal.

b) Inmunohistoquímica:

- La IHQ se define como el uso de AC frente a reactantes específicos para la localización de constituyentes tisulares in situ (antígenos). Actualmente todo el proceso se encuentra estandarizado, empleándose kits de las distintas casas comerciales. En este estudio se utilizaron el procesador Max Bond de Leica®. Sobre secciones histológicas fijadas en formalina e incluidas en parafina se realiza la técnica de desenmascaramiento antigénico, que consiste en romper los puentes hidroximetileno constituidos entre las cadenas de aminoácidos para exponer los antígenos tisulares. Esto se puede realizar empleando enzimas (proteasas) o calor. A continuación se emplea un bloqueante de la peroxidasa endógena tisular

para disminuir la tinción de fondo. Posteriormente se añade un anticuerpo primario dirigido frente al Ag que se desea reconocer. A continuación se aplica un segundo Ac dirigido frente al Ac primario, que es un polímero marcado con peroxidasa. La fase final consiste en revelar estos depósitos con diaminobencidina (DAB), compuesto que reacciona con la peroxidasa, generando una tinción oscura reconocible con el microscopio. El paso final consiste en dar un pase a la muestra con hematoxilina para distinguir los componentes del tejido y las células, poder identificar donde se ha realizado la tinción y visualizarlo en el microscopio. Esta tinción puede ser específica en los distintos compartimentos celulares (citoplasma, membrana citoplasmática, núcleo), inespecífica o negativa. Teóricamente, se considera que cualquier sustancia antigénica que puede conservarse en secciones tisulares puede ser detectada.

Los anticuerpos empleados en esta investigación y la utilidad que tienen son (Tabla 8):

CD3: Glicoproteína de superficie de localización membranosa. Presente en células T y sus neoplasias (linfomas T, NK y micosis fungoides).

CD4: Glicoproteína de superficie de localización membranosa. Presente en células T helpers y timocitos, tumores T periféricos, linfoma anaplásico de células grandes y micosis fungoides.

CD8: Glicoproteína de superficie de localización membranosa. Para la identificación de células T citotóxicas/supresoras y sus neoplasias relacionadas.

CD 43 (Leu 22, L60): Glicoproteína de superficie de localización membranosa. Presente en células T, macrófagos y granulocitos y el LMA, neoplasias T y en neoplasias de bajo grado de células B.

CD 20: Fosfoproteína no glicosilada de células B con función de receptor durante la activación y diferenciación de células B. De localización membranosa y citoplasmática. Se encuentra en células B y monocitos.

CD 79 α : Constituye un heterodímero con CD79b, con función de receptor antigénico en células B, de localización membranoso. Presente en células B y células plasmáticas. Usado en la evaluación de las neoplasias de extirpe B.

C4d: Producto de degradación de la vía clásica del sistema del complemento. En dicha cascada la proteína C4 es convertida en C4a y C4b, y ésta última en C4d, que es un producto catalíticamente inactivo. La peculiaridad de C4d es que, en lugar de desaparecer como otros

componentes del complemento, establece enlaces covalentes con componentes de las células endoteliales y con el colágeno de las membranas basales (MB), que lo mantienen en el tejido y es por ello posible su detección. La valoración del depósito de C4d se ha incluido en los criterios morfológicos que definen el RH.

CMV: Identificación de infección por CMV. Las células infectadas deben mostrar una reacción de tinción nuclear y citoplasmática moderada a intensa.

MIB-1: Proteína expresada en la fase G0 del ciclo celular, de localización nuclear. Se expresa en cualquier célula o neoplasia que esté replicándose. Usado como factor pronóstico en algunos tumores.

c) Hibridación in situ (HIS):

- La HIS es una técnica que permite descubrir la expresión de un gen mediante la detección de su producto, el ARN mensajero. En ella usa una secuencia de nucleótidos, denominada sonda, que es complementaria a la secuencia del ARN mensajero que queremos detectar y que está marcada con una molécula (fluoresceína) que luego pondremos de manifiesto. La técnica puede realizarse en cortes de tejido o en preparaciones celulares. Posteriormente se realiza una IHQ, cuyo Ac primario es antifuoresceína. Esto permite visualizar la hibridación con el microscopio óptico usual

- EBERS (EBV- encoded nonpolyadenylated early RNAs): RNA producido por el VEB, de localización nuclear. Detectado en todas las células infectadas por VEB y en los tumores relacionados. Se detecta en cortes en parafina. Kit de Leica.

d) Microscopía electrónica:

- Cuando se quieren observar estructuras celulares que están por debajo del poder de resolución del microscopio óptico como orgánulos, membranas, estructuras citosólicas, complejos moleculares de la matriz extracelular o virus, se recurre al microscopio electrónico. Las piezas en fresco se tallan en bloques de 0,1 cm de dimensión máxima y se fijan en reactivo de Karnovsky durante 3-24 horas a 4°C. Se lavan en tampón de cacodilato sódico 0,1 molar y pH 7.4. Se postfijan en tetróxido de osmio al 1% en tampón de cacodilato durante 1 hora. Se lavan en tres pasos de tampón de cacodilato. Se deshidratan en concentraciones crecientes de etanol. Se pasan a óxido de prolileno. Se incluyen en resina de epóxica. Se realizan cortes semifinos de 1 micra de espesor que se tiñen con azul de toluidina. Se

seleccionan zonas a estudiar. Se cortan las zonas elegidas en cortes de 40-60 nanómetros de espesor que se montan en rejillas de cobre. Se tiñen con acetato de uranilo y citrato de plomo según la técnica de Reynolds. Se miran en un microscopio electrónico, el modelo empleado en el estudio es el JEM 100SX Electron microscope. Se toman imágenes digitales (la cámara y el software varían).

Tabla 8. Anticuerpos empleados en la investigación

Anticuerpo	Dilución	Casa comercial
CD3 Anticuerpo policlonal de conejo anti-humano	1/50	Dako Glostrup, Dinamarca
CD4 Anticuerpo monoclonal de ratón anti-humano Clon 4B12	1/10	Dako Glostrup, Dinamarca
CD8 Anticuerpo monoclonal de ratón anti-humano Clon C8/144B	1/10	Dako Glostrup, Dinamarca
CD43 Anticuerpo monoclonal de ratón anti-humano Clon DF-T1	1/300	Dako Glostrup, Dinamarca
CD20 Anticuerpo monoclonal de ratón anti-humano	1/100	Dako Glostrup, Dinamarca

Clon L26		
CD79 α Anticuerpo monoclonal de ratón anti- humano Clon JCB117	1/200	Dako Glostrup, Dinamarca
C4d Anticuerpo policlonal humano	1/40	Biogénesis Vitro SA, Sevilla
CMV Anticuerpo monoclonal de ratón anti-CMV Clon CCH2+DDG9	1/20	Dako Glostrup, Dinamarca
KI-67 Anticuerpo monoclonal de ratón anti- humano Clon MIB-1	1/100	Dako Glostrup, Dinamarca

e) Necropsias y estudio de órganos completos resecados y/o explantes:

- Se llama autopsia a toda la serie de observaciones e intervenciones llevadas a cabo sobre el cadáver, que tienen por objeto esclarecer la causa de la muerte. Este estudio puede extenderse a todo el cadáver (autopsia completa) o a una pequeña parte de él (autopsia parcial). Los estudios autópsicos o del explante se realizaron en todos aquellos pacientes en los que se sospechó patología asociada a disfunción del injerto y su relación con el desenlace final. Los estudios autópsicos se realizaron tras la autorización por parte de los familiares del examen post-mortem. Las técnicas de apertura más utilizadas actualmente son las de Mata y Virchow. Para realizar cualquiera de ellas el cadáver debe estar colocado en decúbito supino, con una elevación debajo de la nuca. La sistemática de la autopsia consiste en la apertura del cuerpo a

través de una incisión en la piel en forma de "Y". Una vez hecha la incisión se refleja la piel y el tejido celular subcutáneo. Se desarticulan las clavículas del esternón y se cortan los arcos costales lo cual permite levantar la parrilla costal y estudiar los órganos del tórax. La incisión abdominal debe pasar por la parte izquierda del ombligo. Hecha la inspección general de todos los órganos in situ y establecidas sus relaciones y el examen de las cavidades pleural, pericárdica y peritoneal para determinar la presencia de líquidos (sangre, derrames, etc.), se procede a la evisceración. Los métodos de evisceración más empleados son el Ghon y el de Letulle. El paquete abdominal se aisló, realizándose una disección y visualización in situ de las anastomosis quirúrgicas y de los órganos que componían el injerto. Posteriormente se fijaron los órganos en formol y se tomaron muestras para su estudio tras inclusión en parafina y posterior tinción histológica.

- En el caso de los explantes y las evisceraciones, se remitieron al Servicio de Anatomía Patológica las piezas quirúrgicas. La técnica consistió en la visualización y análisis macroscópico de las anastomosis quirúrgicas y los órganos que componían el injerto o la pieza y su posterior fijación en formol para el posterior muestreo e inclusión en parafina y estudio microscópico.

MÉTODOS:

Guía de observación de biopsias de mucosa del injerto:

Como en cualquier estudio histopatológico es necesaria una guía de observación que permita reconocer y valorar las principales características de la mucosa del injerto. En el caso del TI, se debe ser extremadamente metódico en la interpretación histológica de los hallazgos debido a las distintas variedades de eventos y de complicaciones que pueden suceder. En la guía de observación empleada se han valorado los siguientes ítems.

Arquitectura:

- Villi: punta ojival, altura y grosor, músculo, capilares, desprendimiento de epitelios, capilar linfático, capilar hemático
- Criptas: contorno (oval o redondeado, “trébol”, “gafas”...), ausencia de bifurcaciones, base cerca de muscularis, pérdida o ausencia de criptas (reticulina).
- Lámina propia: capilares y densidad de la celularidad linfoplasmocitaria.

- Muscularis mucosae: continuidad o interrupción, engrosamientos, duplicidad.
- Submucosa
- Folículos linfoides: presentes o ausentes

Celularidad:

- Revestimiento de villi: células caliciformes y enterocitos
- Criptas (compartimento reproductor, compartimento madurativo): Epitelio SAI, Paneth, enterocromafines (neuroendocrinas) y el fibroblasto pericriptico.
- Linfocitos intraepiteliales (4-5/10 enterocitos)
- Células del intersticio de lámina propia y submucosa: macrófagos, linfocitos, plasmáticas, eosinófilos, neutrófilos, cebadas, restos celulares: glóbulos de globulinas, granulos de eosinófilos.
- Celularidad de folículos linfoides: linfocitos, linfoblastos, células sustentaculares
- Celularidad de capilares y otros vasos: endotelios prominentes, linfocitos (endotelitis), diapédesis de neutrófilos

Materiales y germenos lumbinales: Hongos, levaduras, bacterias, fibrina, detritus.

Grupos y criterios diagnósticos:

El injerto puede desarrollar distintos tipos de patología. Esta multiplicidad requiere de una clasificación y jerarquización de los hallazgos para su mejor comprensión. Con el fin de sistematizar el estudio de las lesiones se han agrupado los hallazgos en categorías diagnósticas, según criterios patogénicos y de prevalencia.

- NO: Normal o características habituales
- IAI: Inflamación activa inespecífica
- CMI: Cambios mínimos inespecíficos
- ISQ: Isquemia
- LP: Lesión de preservación/reperfusión

- CMV: Citomegalovirus
- OVO: Otros Virus Oportunistas
- FUN: Hongos
- PSM: Enteritis Pseudomembranosa
- RH: Rechazo humoral
- RA(n): Rechazo Agudo 1, 2, 3.
- IRA: Indeterminado para RA
- MR: Mucosa reparativa
- RC: Rechazo Crónico
- SLPT: síndrome linfoproliferativo post-trasplante
- EICH: Enfermedad de injerto contra huésped
- ULC: Ulceración de causa no filiada
- SEP: Sepsis
- TEC: Complicaciones técnicas
- MIS: Miscelánea (kaixelato, microtrombos, calcificación, fibrosis, hiperplasia folicular, congestión capilar)

Estas categorías histológicas no son excluyentes. Pudiendo tener una misma biopsia varios diagnósticos histológicos. Durante el seguimiento de estos pacientes se han estudiado desde la perspectiva morfológica todas las complicaciones que aparecen, tanto las inmediatas, como las que suceden a largo plazo. Los criterios histológicos empleados son los descritos por los principales grupos en las publicaciones más relevantes, para poder contrastar nuestros resultados con los suyos. En algunas valoraciones ha sido necesario modificarlos en función de las características de nuestra población de estudio. Otras entidades apenas estaban estudiadas o reflejadas en las publicaciones, de manera que el equipo de patólogos ha creado en nuestro Programa una metodología propia de estudio. A continuación se exponen los criterios de las principales categorías diagnósticas estudiados y los trabajos realizados:

Normal o características habituales: Mucosa sin complicaciones, sin evidencia de lesión epitelial activa, sin infiltrados inflamatorios anormales en lámina propia y sin presencia de agentes infecciosos (118).

Inflamación activa inespecífica: Mucosa con lesiones epiteliales tipo criptitis y neutrófilos en LP, con erosión de la mucosa o ulceración con tejido de granulación o inflamación exudativa luminal, pero sin hallazgos que permita incluirla en alguna de las otras categorías (118).

Cambios mínimos inespecíficos: Mucosa que presenta leve o ninguna alteración de la arquitectura con aumento del infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario en lámina propia, pero sin evidencia de ningún otro hallazgo que haga sospechar patología específica.

Isquemia intestinal:

La forma aguda obedece a una interrupción brusca del flujo. Las formas clínicas más frecuentes de isquemia intestinal y sus superposiciones posibles son:

Aguda con enterocolitis isquémica: necrosis de la mucosa especialmente en topografías peor irrigadas (ángulo esplénico del colon) y determinada por una disminución del flujo en la mucosa, con diarrea frecuentemente sanguinolenta desde el punto de vista clínico, con etiología múltiple (generalmente hipotensión en mayores con asociada disminución crónica del flujo por arteriosclerosis de vasos mesentéricos, en coagulopatías... etc). Existe la forma pseudomembranosa cuando la microtrombosis está condicionada por toxinas bacterianas en sobrecrecimientos tras uso de antibióticos como la provocada por clostridium, pero que también puede darse como forma en una etiología no bacteriana y clásica de hipotensión arterial o shock.

Aguda con infarto: necrosis transmural de tipo coagulativo tras obstrucción arterial o venosa de vasos mesentéricos grandes por arteriosclerosis, incarceration de asas (hernias) o vólvulos aunque puede darse también en hipotensiones y deshidratación sin obstrucción vascular en viejos.

Crónicas fibrosantes: por obstrucción lenta y progresiva de vasos que provoca escaso flujo en la pared intestinal y produce fibrosis y estenosis imitando un carcinoma infiltrante.

Crónicas no fibrosantes: que incluyen las úlceras crónicas y la forma obstructiva que es característica del cáncer estenosante que provoca isquemia proximal a 2-4 cm de la estenosis y que simula colitis isquémica aguda con ulceraciones confluentes.

Los distintos grados y tipos de lesión van a estar condicionados por tanto por el tiempo y modo en que esté interrumpida la irrigación (68,76)

Lesión de preservación/reperusión:

Es necesario conocer las lesiones producidas en la mucosa del injerto por su resección, conservación e implante para evaluar las inmediatas subsiguientes biopsias protocolizadas. El objetivo es identificar y graduar las lesiones de la mucosa del injerto inmediatamente post-implante. Los daños son objetivables en los primeros 5-6 días post-trasplante. Generalmente no son intensos y son recuperables en una semana debido a la gran capacidad de regeneración del epitelio criptico. El grado de lesión parece estar relacionado con el tiempo de isquemia fría del injerto, de manera que isquemias prolongadas producen daños más relevantes (66-72). En nuestro estudio dos patólogos han evaluado por separado los cambios histológicos encontrados en la mucosa de las biopsias de "tiempo 0" remitidas en 13 injertos intestinales, en cortes en parafina y teñidas con hematoxilina-eosina. Los hallazgos valorados han sido: Congestión, microtrombos, hemorragia, neutrófilos en capilares y/o lámina propia, cariorrexis, apoptosis, atrofia vellositaria, epitelio desprendido, erosión, pérdida de criptas. La gravedad de cada uno se estableció en cuatro niveles: ausente, leve, moderado e intenso (Tabla 9). Con los hallazgos encontrados y su gravedad se hicieron 4 grados de intensidad: grado 0 (ausentes), grado 1 (al menos 3 hallazgos leves presentes), grado 2 (al menos 3 hallazgos moderados presentes), grado 3 (al menos 3 hallazgos severos presentes). También se recogió el tiempo de isquemia fría de cada injerto (Tabla 10). Se evaluó la correlación que existía entre el grado dado por cada patólogo a cada biopsia y también entre el grado final con el tiempo de isquemia fría. Esta correlación se realizó empleando el test no paramétrico de rho (ρ) de Spearman. Para conocer la evolución se estudiaron otras 19 biopsias enteroscópicas de seguimiento entre día 1º y 6º.

Tabla 9. Recuento de cambios encontrados en 13 biopsias endoscópicas tomadas antes de 24 horas post-trasplante.

Lesión	Ausente	Leve	Moderado	Intenso
Congestión	5	4	2	2
Microtrombos	11	1	0	1
Hemorragia	9	1	1	2
Neutrófilos capilares / LP	7	3	3	0
Cariorrexis	9	3	0	1
Apoptosis	11	2	0	0
Atrofia vellositaria	5	4	3	1
Epitelio desprendido	4	6	0	3
Erosión	11	1	0	1
Pérdida de criptas	11	1	0	1

Tabla 10. Grado de lesión por preservación dado por cada patólogo, grado final y tiempo de isquemia fría de cada biopsia.

Injerto	Lesión preservación Patólogo 1	Lesión preservación Patólogo 2	Grado final de lesión de preservación	Tiempo de isquemia fría (minutos)
1	2	2	2	255
2	2	2	2	360
3	1	2	2	315
4	1	2	2	355
5	0	1	1	360
6	0	0	0	350
7	0	0	0	160
8	3	3	3	480
9	3	3	3	475
10	0	1	1	285
11	0	0	0	135
12	2	2	2	380
13	0	0	0	345

Rechazo Humoral/ Reacción mediada por anticuerpos:

Los criterios para el diagnóstico de rechazo mediado por anticuerpos en corazón y riñón incluyen la presencia anticuerpos donante-específicos positivos, hallazgos histológicos característicos y depósitos de C4d en el injerto y disfunción de este (129-132). En el TI existen datos limitados, siendo necesario conocer la utilidad de los depósitos de C4d en la interpretación de las biopsias post-implante de los injertos para evaluar la posibilidad de rechazo humoral (136-137). Se realizó inmunohistoquímica reveladora de depósitos de C4d

(anticuerpo humano policlonal dilución 1/40 Biogénesis Vitro SA, Sevilla) en las biopsias de "tiempo cero" de los 13 injertos donde también se estudiaron los cambios de preservación. Se usaron como controles de tinción de C4d tres biopsias de mucosa intestinal no trasplantada de características habituales. Se valoró como positiva la tinción intensa difusa del endotelio capilar de mucosa y como negativa la ausencia de positividad y la tinción débil o focal. En las biopsias de los injertos se recogió el grado de lesión de preservación y el tiempo de isquemia fría. La detección de anticuerpos séricos preformados contra el donante se realizó en todos los casos mediante la técnica serológica de citotoxicidad dependiente de complemento (*crossmatch*) (Tabla 11). El grado de correlación entre estas variables se realizó empleando el test no paramétrico de rho (ρ) de Spearman. Para conocer su evolución se evaluaron otras 19 biopsias enteroscópicas de seguimiento entre día 1º y 6º. Se correlacionaron los parámetros entre sí buscando asociaciones estadísticamente significativas.

Tabla 11. Depósitos de C4d, tiempo de isquemia fría, *crossmatch* y grado de preservación de las "biopsias tiempo cero" los 13 injertos estudiados

Injerto	<i>Crossmatch</i>	Tiempo de isquemia fría (min.)	Tinción C4d	Grado lesión por preservación
1	NEGATIVO	255	NEG	2
2	NEGATIVO	360	NEG	2
3	POSITIVO	315	NEG	2
4	NEGATIVO	355	NEG	2
5	NEGATIVO	360	POS F	1
6	NEGATIVO	350	NEG	0
7	NEGATIVO	160	POS F	0
8	NEGATIVO	480	POS F	3
9	NEGATIVO	475	POS D	3
10	NEGATIVO	285	POS F	1
11	NEGATIVO	135	NEG	0
12	POSITIVO	380	POS D	2
13	NEGATIVO	345	POS F	0

Rechazo agudo:

Los criterios histológicos empleados para el diagnóstico de rechazo han sido los descritos previamente evaluando 3 parámetros clásicos (infiltrado inflamatorio de lámina propia, cariorrexis-apoptosis y pérdida de criptas) (94,139) pero su gradación se ha modificado con respecto a aquella descrita por los diferentes grupos (117,123,141,145) basándose especialmente en la lesión característica del rechazo agudo (apoptosis y cariorrexis) y en la destrucción total del epitelio críptico que lleva a la pérdida de criptas, debido a los nuevos hallazgos descritos en la mucosa intestinal en episodios de rechazo en pacientes tratados con inmunosupresión de inducción con timoglobulina o alentuzumab (120). En estos se ha observado que la lesión del villi (acortamiento o desaparición) no aparece hasta que el ataque inmune es intenso y persistente. Así, se ha considerado RA cuando existe un infiltrado inflamatorio de linfocitos y polimorfonucleares (generalmente incluyendo un componente de eosinófilos), lesión del epitelio críptico en forma de cariorrexis y apoptosis y la pérdida de criptas y se han valorado y puntuado los hallazgos según las siguientes escalas:

1.- La pérdida de criptas (Figura 16): (Se refiere a la pérdida por destrucción “activa” de la cripta, es decir, ha de estar “borrada” por infiltrado inmunocompetente y no ha de deberse a la pérdida por lesión previa o por artefacto de compresión por la pinza).

- Destrucción focal: 1 punto
- Destrucción extensa (< 5 criptas contiguas): 2 puntos
- Destrucción total (>5 criptas contiguas destruidas): 6 puntos

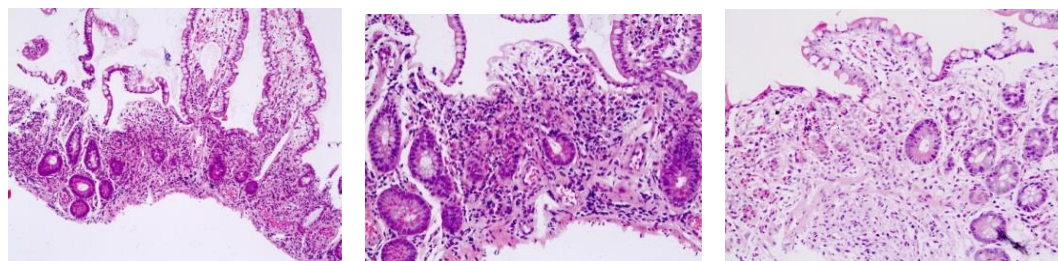


Figura 16. Distintos grados de lesión de criptas.

2.- Las apoptosis (Figura 17): vacuolas con polvo nuclear o restos cariorréticos.

- 1 en 10-12 criptas del fragmento más lesionado: 1 punto
- De 2 en 10-12 criptas del fragmento más lesionado: 2 puntos

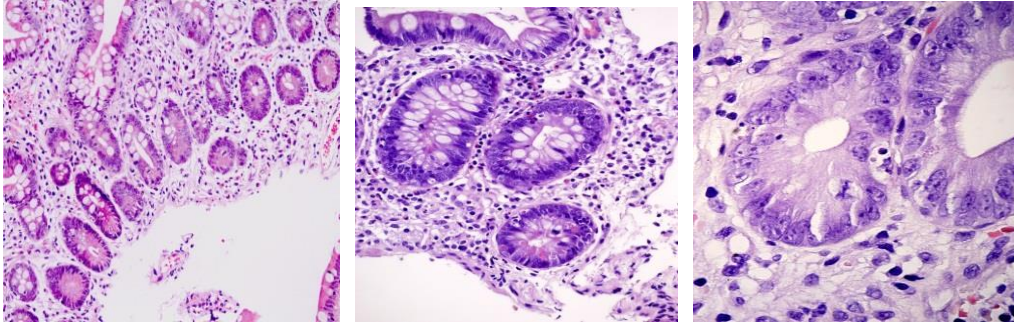


Figura 17. Cuerpos apoptóticos en el epitelio críptico

3.- Las cariorexias (Figura 18): polvo nuclear intraepitelial sin vacuola.

- >3 criptas seguidas con cariorexias: 1 punto
- Cariorexias presente en más del 50% de las criptas: 2 puntos

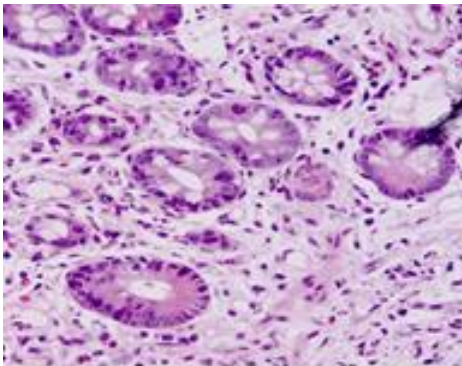


Figura 18. Múltiples imágenes de cariorexias en los núcleos

La muestra que obtuvo el recuento más alto fue la que determinó el grado definitivo de rechazo agudo.

En función de la puntuación total el RA se ha clasificado como:

- Indeterminado para rechazo (IRA): Score de 1 (destrucción focal de una cripta o 1 apoptosis en 10-12 criptas seguidas o >3 criptas seguidas con cariorexias, siempre en el fragmento más lesionado de los biopsiados). Así, sólo debe usarse cuando las tres características (infiltrado+cariorexias/apoptosis+pérdida críptica) son poco prominentes, menos que lo

exigible para el grado leve y no como un diagnóstico de inseguridad en el diagnóstico diferencial con otros procesos (Figura 19). Objetivado este grado en biopsia de control, condiciona la evaluación de los niveles séricos de inmunosupresores y su corrección además de indicar reevaluación con nueva enteroscopia y nuevas biopsias adelantando la siguiente cita de control enteroscópico dentro de la semana siguiente.

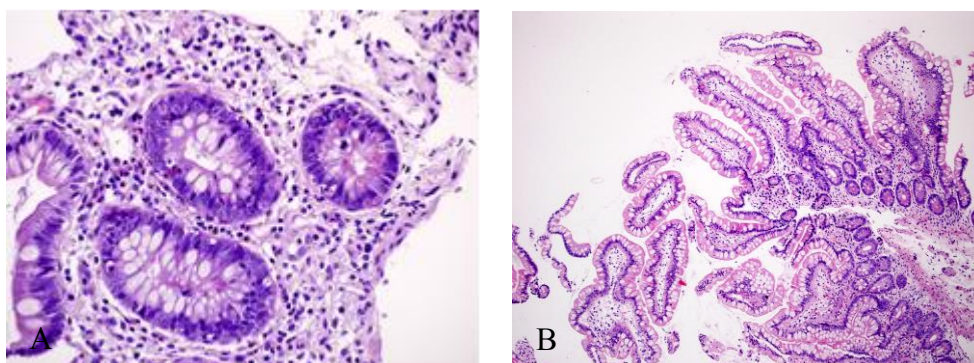


Figura 19. Ejemplo de mucosa de injerto intestinal con IRA: incremento de apoptosis (A) pero mucosa conservada (B).

- RA leve: Score de 2 (menos de 5 criptas destruidas o 2 apoptosis en 10-12 criptas seguidas ó cariorrexis en más del 50 % de 10-12 criptas seguidas). Infiltrado inflamatorio es poco intenso y localizado alrededor de pequeñas vénulas de lámina propia (Figura 20). Objetivado este grado, condiciona la evaluación de los niveles séricos de inmunosupresores y su corrección inmediata a niveles altos así como nueva enteroscopia y biopsia dentro de los dos días siguientes.

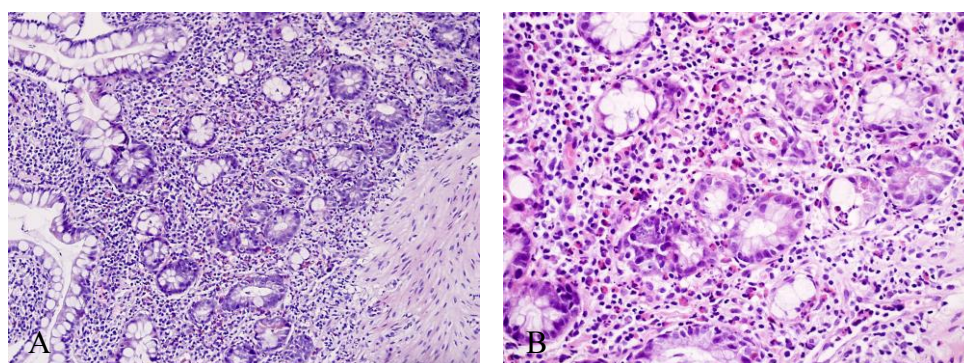


Figura 20. Ejemplo de RA-leve: Mucosa de superficie intacta (A) pero con criptitis y apoptosis (B).

- RA moderado: Score de 3-4 (sumatorio 3-4 de destrucción de criptas y carirrexis o apoptosis). El infiltrado inflamatorio está ampliamente disperso por la lámina propia. Puede

verse arteritis intimal leve o moderada. El epitelio permanece intacto en cuanto a continuidad, sin ulceración, aunque pueden verse erosiones focales (Figura 21). Objetivado este grado, condiciona inmediato tratamiento inmunosupresor adicional.

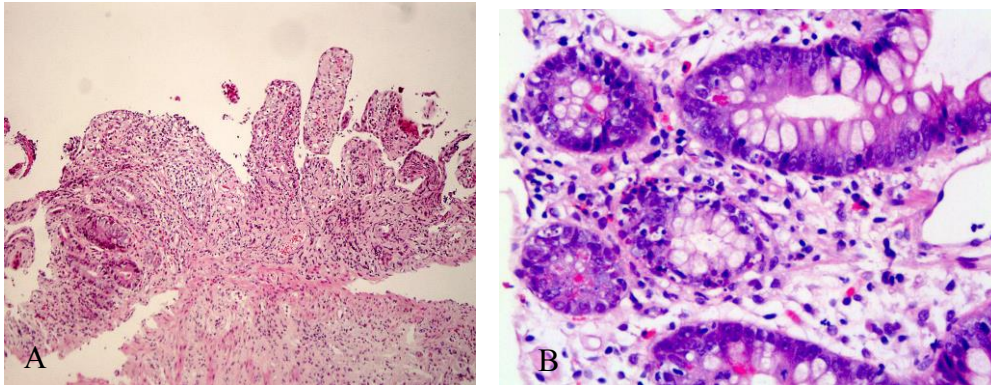


Figura 21 Ejemplo de RA-moderado: Daño críptico difuso(A) y criptitis confluentes (B).

- RA severo: Score superior a 4 (la destrucción de más de 5 criptas seguidas alcanza esta puntuación y también una suma destrucción de más de 2 criptas con notable presencia de cariorrexis y/o apoptosis). El infiltrado linfoide se extiende profundamente en la pared y llega a afectar los plexos nerviosos y hay ulceración. El epitelio adyacente a las úlceras es el que muestra abundantes apoptosis. Con la destrucción de la superficie mucosa el contenido intestinal promueve un abundante infiltrado de neutrófilos que cubre las úlceras con pseudomembranas. Puede llegar a verse descamación de mucosa. Se observa arteritis intimal y transmural (Figura 22). Objetivado este grado, condiciona inmediato tratamiento inmunosupresor adicional individualizado hasta el punto de considerar nueva dosis de alentuzumab.

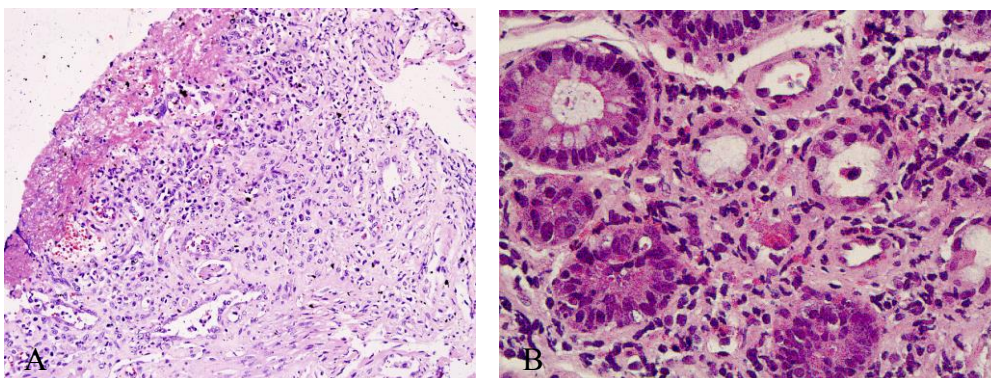


Figura 22. Ejemplo de RA-intenso: Ulceración del epitelio (A) y daño activo de criptas (B).

Se definió “episodio RA”: días entre el primer diagnóstico y el último de IRA/RA seguido de al menos 10 días sin ataque inmune. Cada episodio se nominó con el grado más alto.

Se tabularon todas aquellas biopsias comprendidas en un periodo de RA y las biopsias previas y posteriores al episodio con el objetivo de establecer qué grado de rechazo corresponde a cada biopsia y determinar su forma de comienzo, duración y forma de terminar.

Se han estudiado las **características del infiltrado inflamatorio linfocitario** que aparecen en los episodios de RA. Para ello se han evaluado seis muestras de mucosa de injerto intestinal con distintos grados de RA (dos grado 1, dos grado 2 y dos grado 3). Se ha tipificado la población linfocitaria T con CD3, CD4 y CD8 y la B con CD 20 y CD 79 α . Como controles se han empleado muestras de mucosa intestinal no trasplantada y mucosa de injerto sin aparente ataque inmune.

También se han estudiado los cambios producidos en la **mucosa intestinal reparativa/regenerativa**. Los hallazgos se caracterizan por la presencia de un epitelio inmaduro (basófilo, con alta relación núcleo-citoplasmática, mitosis y ausencia de diferenciación mucinosa) situado en criptas con distorsión de su arquitectura, observados en la mucosa intestinal tras su lesión por distintas causas (Figura 23). Se han evaluado las características histológicas de la mucosa reparativa encontradas en las 54 biopsias endoscópicas realizadas durante el curso evolutivo de 16 injertos intestinales, describiéndose sus características y su asociación con ataque inmune (rechazo) (Tabla 12).

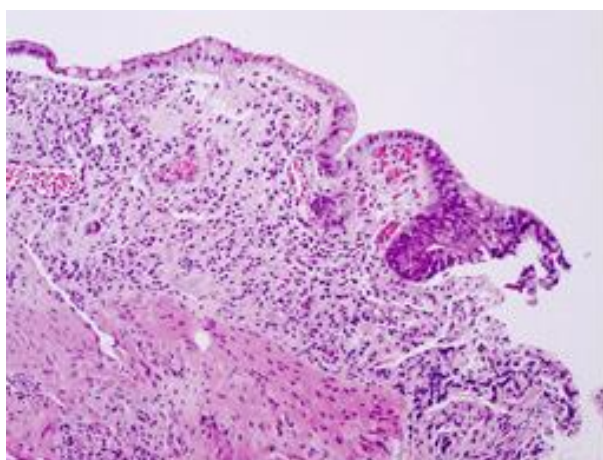


Figura 23. Ejemplo de mucosa regenerativa

Tabla 12. Estudio de las características de la mucosa reparativa.

Pac	Duración	Biopias	Asociación diagnóstica	Inflamación en LP	Ulceración	Apoptosis cariorrexis	Microtrombos
1	71	12	RA-2	ESCASA	NO	SI	NO
2	6 y 52	2	NO	NO	SI	NO	NO
3	101	16	Microtrombos	ESCASA	SI	NO	SI
4	89	5	RA y SLPT	ESCASA	NO	NO	NO
5	32	6	RA-3	NO	SI	NO	NO
6	90	12	RA-3	NO	SI	SI	NO
7	29	1	NO	NO	SI	NO	NO

Pac: Paciente

Rechazo crónico:

En los estudios histológicos se puede observar cambios en la mucosa por isquemia crónica, como pérdida de glándulas, distorsión de la arquitectura, apoptosis y fibrosis en lámina propia. Pero el hallazgo clave es la vasculopatía de los vasos del injerto, que condiciona los cambios de isquemia crónica, con marcada hiperplasia intimal concéntrica, depósito de macrófagos “espumosos” subintimales, cambios fibrosos, e hipertrofia de la media y fibrosis adventicial. Estos cambios son más frecuentes en las arterias medianas/grandes submucosas o mesentéricas por lo que su diagnóstico precisa muestras de toda la pared o sólo se ven en los injertos fracasados por esta causa (148).

Infecciones:

La patología infecciosa es una de las principales complicaciones que presentan los pacientes trasplantados y el diagnóstico histopatológico, combinado con el microbiológico, es esencial en la determinación de etiologías víricas y fúngicas. En este trabajo se ha valorado únicamente la positividad de agentes infecciosos en los tejidos y/o la sospecha de patología infecciosa viral o fúngica que se diagnostican en el estudio biopsico. Se describen los criterios y patrones empleados para su diagnóstico:

CMV: Se ha sospechado al observar erosión mucosa o ulceración, con inflamación crónica activa. Se han considerado infección activa por CMV a todos los que aportaban inclusiones intranucleares anfófilas, rodeadas por un halo claro y una membrana nuclear delgada y con inclusiones eosinófilas, pequeñas en citoplasma; estas inclusiones se observan con más frecuencia en células endoteliales y estromales y menos en enterocitos. Para confirmar la sospecha y también cuando existía inclusión diagnóstica se ha realizado tinción de IHQ (48 biopsias).

Adenovirus: Inclusiones intranucleares eosinófilas en los enterocitos de superficie con edema vellositario e hiperplasia y desorganización del epitelio, asociadas a inflamación mixta en lámina propia con criptitis. Se ha realizado estudio ultraestructural en tres biopsias sospechosas.

VEB: Su búsqueda en tejidos se estudió en el contexto de SLPT. En las primoinfecciones por este virus se observa una mucosa intestinal adelgazada, con hemorragias puntiformes, erosiones o úlceras, con infiltrado linfoplasmocitario e histiocítico en la lámina propia. La confirmación se ha realizado por la técnica de HIS, empleándose en una totalidad de 18 biopsias.

Hongos: cuando en la tinción de HE se han observado estructuras compatibles con hifas o esporas. Aunque su diagnóstico definitivo de género y de especie debe realizarse mediante cultivo, la presencia en HE de organismos de paredes gruesas, positivas con tinciones de PAS y de plata, asociadas con necrosis tisular se ha considerado como micosis invasiva. En el caso de *Aspergillus* sp, se ha considerado como aspergilosis invasiva la presencia de estructuras ramificadas y septadas en las paredes de los vasos con hemorragia e infarto, asociadas a una reacción necrotizante o situadas en el tejido con necrosis coagulativa.

Enteritis Pseudomembranosa: Las pseudomembranas proceden de la adherencia en forma de placa de los restos fibrino-purulento-necróticos y de moco sobre la mucosa alterada. No son membranas verdaderas, porque el coágulo fibrinoso no es una capa epitelial. La formación de membranas puede inducirse en cualquier lesión grave de la mucosa, como en patologías infecciosas necrotizantes, isquémicas o de base inmunológica. Se consideran entre la patología infecciosa porque se relacionan con la toxina de bacterias (*Clostridium*) cuyo crecimiento se desarrolla en la luz intestinal.

Síndrome linfoproliferativo post-trasplante:

El SLPT engloba un espectro de proliferaciones de linfocitos y células plasmáticas, asociadas con frecuencia al VEB. Los criterios empleados para el diagnóstico han sido los reflejados por la OMS (158), englobándose en cuatro categorías:

- Lesiones tempranas: son la hiperplasia plasmocítica (HP) y la infección mononucleosis-like. Son proliferaciones linfoides difusas de células plasmáticas e inmunoblastos pero que no distorsionan completamente la arquitectura del tejido.
- SLPT polimorfo: lesiones destructivas compuestas por una población linfoide heterogénea con linfocitos de tamaño intermedio, inmunoblastos y células plasmáticas, que distorsionan la arquitectura nodal o forman masas extranodales.
- SLPT monomorfo: recuerda a un linfoma no-Hodgkin, pudiendo ser las células proliferadas B o T.
- SLPT Linfoma Hodgkin (LH) y símil LH: el diagnóstico debe basarse en hallazgos morfológicos e inmunofenotípicos clásicos (presencia de células reed-sternbergoides)

El esquema empleado para su diagnóstico por el equipo de patólogos del Hospital 12 de Octubre es similar y se resume en la tabla 13.

Tabla 13. Esquema para el diagnóstico de SLPT. Hospital 12 de Octubre

GRADO	MORFOLOGÍA	IHQ
Inicial o incipiente	Plasmocitosis Hiperplasia	Policlonalidad: mezcla de linfocitos B (CD20+,

		CD79a+) y T (CD3+). EBER +
	<p>Símil Mononucleosis (VEB):</p> <p>Proliferación polimorfa con inmunoblastos, linfocitos y plasmáticas. En hígado la infiltración es preferentemente portal pero también es similar a una hepatitis mononucleósica con infiltración sinusoidal. Puede coexistir con RA (DD: alta proporción de plasmocitos, inmunoblastos y mitosis, mayoría de B frente a mayoría de T en RA y restricción de cadenas ligeras) (o tb masas (ganglios) en hilio con signos de Obstrucción Biliar)</p>	<p>Policlonalidad: mezcla de linfocitos B (CD20+, CD79a+)</p> <p>y T (CD3+). EBER +</p>
Intermedio	<p>SLP Polimorfo:</p> <p>Inmunoblastos, células intermedias y plasmáticas en “masas” con borramiento de la arquitectura tisular. Puede haber mitosis numerosas y células reedstembergoide</p>	<p>Monoclonalidad: nódulos CD20+,CD79a+con restricción (al menos focal) de cadenas ligeras kappa/lambda (normal 2/1) con variable proporción de Células T. LMP 1 ± y EBER +</p>
Tardío	<p>Linfoma de alto grado:</p> <p>Proliferación linfoide monomorfa pero con algunas pleomorfias, menos a menudo tipo Burkitt o tipo mieloma generalmente B similar al del paciente inmunocompetente</p>	<p>B (CD10+, CD20+, CD79a+)</p> <p>EBER muy variable</p>

	Linfoma de Hodgkin	Similar a otros Hodgkin (CD15+ y CD30+) casi siempre EBER+
	Mieloma +/-	
	Linfomas T / NKcel	

Enfermedad de injerto contra huésped:

La enfermedad de injerto contra huésped (EICH) es una enfermedad multisistémica producida cuando los linfocitos T del órgano trasplantado reconocen a los antígenos del receptor como extraños iniciando una respuesta inmune. Se divide en una forma aguda y otra crónica en función de su momento de aparición. La forma aguda suele aparecer entre las 2 a 6 semanas post-trasplante. En la biopsia cutánea encontramos en la epidermis vacuolización de la capa basal con queratinocitos apoptóticos y un infiltrado linfoide, clasificándose los hallazgos en cuatro grupos (161):

Grado I Degeneración vacuolar de la capa basal

Grado II Presencia de disqueratocitos en epidermis o epitelio follicular

Grado III Formación de hendiduras subepidérmicas o microvesículas

Grado IV Separación completa de la epidermis y la dermis

Se pueden observar células-satélite de la necrosis que consisten en los linfocitos T del donante que están rodeando los queratinocitos necróticos del receptor. En casos graves (grados III y IV) existe necrosis epidérmica completa con eritrodermia. El estudio con inmunofluorescencia revela el depósito de IgM y/o C3 (137-138).

Ulceración de causa no filiada:

Una úlcera es un defecto local en la superficie mucosa secundario a la descamación o desprendimiento del tejido necroinflamatorio. En la fase aguda hay un denso infiltrado inflamatorio polimorfonuclear y dilatación vascular en los márgenes lesionales. En la fase crónica puede haber fenómenos de cicatrización con proliferación fibroblástica y fibrosis,

junto con un infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario. Este hallazgo puede encontrarse en el estudio histológico de las biopsias de injerto intestinal sin poder determinarse una etiología concreta, y puede ser un epifenómeno de un ataque inmune, de una infección, de una isquemia local o de un daño mecánico previo (pinza de biopsia).

Sepsis:

El estado séptico condiciona una serie de cambios en los órganos tales como congestión, edema, infiltrados inflamatorios, lesión endotelial, coagulación intravascular diseminada etc. que ocasionalmente son diagnósticos de la diseminación microbiana o que permiten concluir con la correlación anatomoclínica adecuada que dichos cambios son significativos de sepsis, especialmente en estudios necrópsicos. En el caso de evolución hacia shock y/o fracaso multiorgánico, las alteraciones celulares y tisulares se corresponden con lesiones causadas por la anoxia. Estas pueden aparecer en cualquier tejido, siendo más evidentes en el cerebro, los pulmones, los riñones, las suprarrenales y el tubo digestivo.

Miscelánea:

En el grupo de miscelánea se incluyeron los hallazgos histológicos no relacionados con eventos patológicos globales (de sistema o de órgano) pero con suficiente relevancia como para mencionarse en el diagnóstico anatomopatológico (DAP). En esta categoría se incluyó la reacción tisular a las partículas de kaixalato, la presencia de microtrombos, la calcificación ectópica, la fibrosis, la hiperplasia folicular linfoide y la congestión capilar.

V. RESULTADOS

DIAGNÓSTICOS BIÓPSICOS EN LOS INJERTOS

Estos diagnósticos se distribuyeron, ordenados por los objetivos que motivaron la obtención de la muestra, en los siguientes grupos:

- Indicados para valorar los cambios iniciales post-trasplante:

a) Cambios de preservación: 16 biopsias

b) Rechazo humoral: 1 biopsia

- Indicados para valorar el desarrollo de patología microscópica en la evolución post-trasplante:

a) Rechazo agudo: 66 biopsias

b) Mucosa regenerativa: 63 biopsias.

c) Síndrome linfoproliferativo post-trasplante: 31 biopsias

d) Infecciones: 15 biopsias

e) Inflamación aguda inespecífica: 235 biopsias.

f) Cambios mínimos: 324 biopsias.

g) Histología normal: 80 biopsias.

h) Miscelánea de diagnósticos en biopsias del injerto: 54 biopsias

En el número global de diagnósticos biópsicos de la mucosa del injerto el diagnóstico más frecuente realizado fue el de cambios mínimos inespecíficos representando un 32,4% (324). Seguido de inflamación aguda inespecífica que fue el 23,5% (235) y mucosa normal en tercer lugar representando el 8% (80) (Gráfico 8).

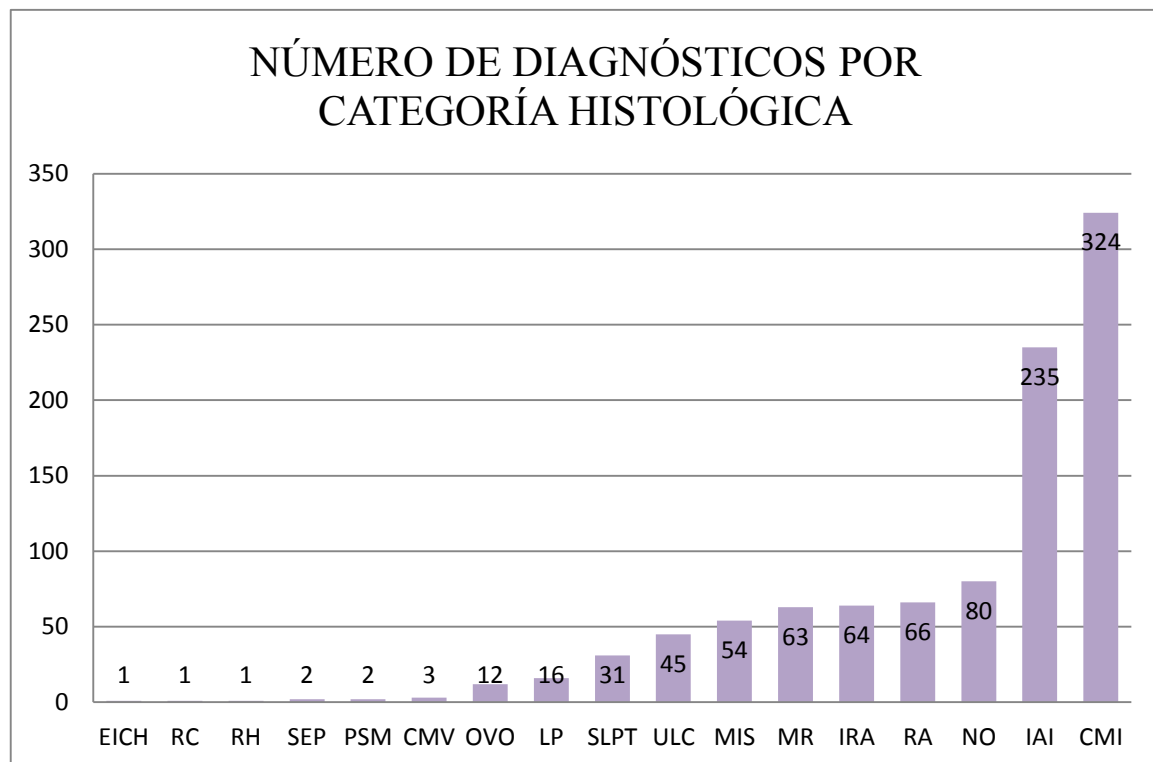


Gráfico 8. Distribución de los diagnósticos por categoría histológica. CMI: Cambios mínimos inespecíficos, CMV: Citomegalovirus, EICH: Enfermedad de injerto contra huésped, FUN: Hongos, IAI: Inflamación activa inespecífica, IRA: Indeterminado para RA, LP: Lesión de preservación/reperfusión, MIS: Miscelánea (kaixelato, microtrombos, calcificación, fibrosis, hiperplasia folicular, congestión capilar), MR: Mucosa reparativa, NO: Normal o características habituales, OVO: Otros Virus Oportunistas, PSM: Enteritis Pseudomembranosa, RA: Rechazo, RC: Rechazo Crónico, RH: Rechazo humoral SEP: Sepsis, SLPT: síndrome linfoproliferativo post-trasplante, ULC: Ulceración de causa no filiada.

HISTOLOGÍA Y GRADACIÓN DE CAMBIOS DE PRESERVACIÓN:

De los hallazgos encontrados en las 13 biopsias el desprendimiento epitelial fue el más frecuente observándose en el 24% de las biopsias. La atrofia vellositaria fue el siguiente en frecuencia representando un 21%. La congestión apareció en el 18%, los neutrófilos en lámina propia en el 16%. La hemorragia en el 11%. Los microtrombos, las erosiones y la pérdida de criptas en un 5% cada uno (Gráfico 9 y Figura 24). Valorando la intensidad y frecuencia de estos cambios según la clasificación reflejada en Material y métodos (pg.114) se obtuvo un grado 3 de lesión en 2 casos, el grado 2 en 5, grado 1 en dos y grado 0 en cuatro (Gráfico 10).

Existió correlación positiva ($\rho = 0,915$) entre las evaluaciones de dos patólogos ($p < 0,01$): acuerdo total en grado en 9 biopsias y acuerdo parcial (un solo punto de diferencia) en 4. Existió correlación positiva ($\rho = 0,681$) entre el grado de preservación y el tiempo de isquemia fría ($p < 0,05$). El tiempo medio de isquemia fría fue de $327,31 \pm 101,563$ minutos (rango: 135-480). En el seguimiento biopsico posterior que se dió alrededor del tercer día de día ($3,6 \pm 1,1$) las lesiones histológicas disminuyeron al menos en un grado en todos los casos.



Gráfico 9. Distribución y porcentaje de los cambios de preservación observados.

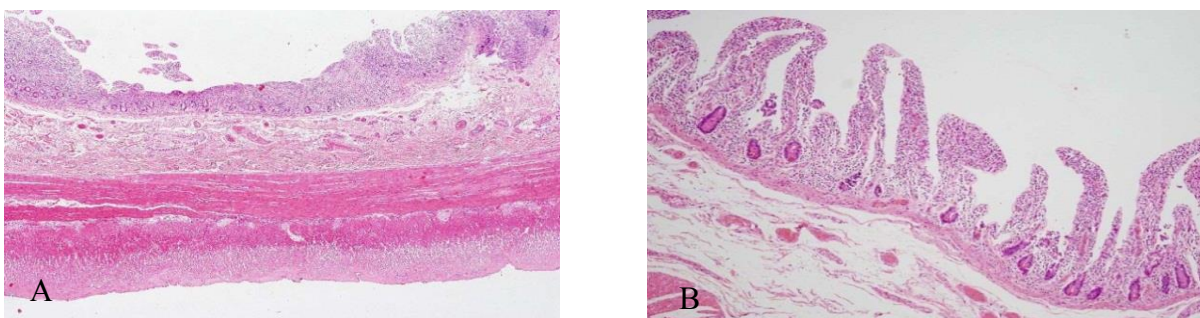


Figura 24 Cambios de preservación: Atrofia vellositaria (A) y desprendimiento epitelial con pérdida de criptas (B).

Cada uno de los grados quedó definido de la siguiente manera:

En Grado 0 no hay cambios relevantes o son mínimos

En Grado 1 se encuentra leve congestión y/o leve atrofia vellositaria

En Grado 2 se encuentra congestión, hemorragia, neutrófilos en LP, atrofia vellositaria focal, desprendimiento de epitelio vellositario leves-moderadas, y alguna ocasional y muy focal erosión

En Grado 3 se encuentra congestión, hemorragia intensas, neutrófilos en LP y criptitis, epitelio desprendido, erosión, y pérdida de criptas.

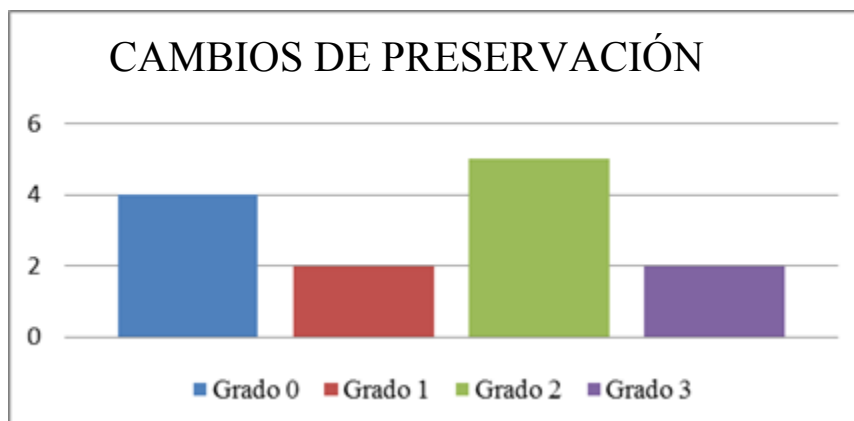


Gráfico 10. Proporción de los distintos grados de los cambios de preservación

ESTUDIO HISTOLÓGICO DE POSIBLE RECHAZO HUMORAL:

En el estudio se observaron los depósitos de C4d y su posible relación con la presencia de rechazo humoral. Para ello fue necesario estudiar el depósito del anticuerpo tanto en biopsias control de mucosa intestinal como en biopsias de injerto. En las biopsias control se observó depósito focal y débil de C4d en la pared de los capilares submucosos. En el caso de los injertos se observaron depósitos intensos y difusos de C4d en las biopsias de 2 pacientes, focales y débiles en 4 (Figura 25) y ausencia de depósito en 6 (Gráfico 11). Se comparó el tipo de depósito de los injertos con el estudio de crossmatch previo de los pacientes para la detección de anticuerpos preformados, el grado de lesión de preservación y el tiempo de isquemia fría del injerto. Hubo dos casos con crossmatch positivo que tuvieron un grado moderado de lesión de preservación y en uno de ellos una tinción difusa para C4d con isquemia fría de 360 minutos, el otro no tuvo tinción y su tiempo de isquemia fría fue de 315

minutos. Otro caso de crossmatch negativo mostró depósitos de C4d positivos, con un grado severo de lesión por preservación y un tiempo de isquemia de 475 minutos. No se observó ninguna correlación significativa entre el crossmatch, los depósitos de C4d, el grado de lesión por preservación y el tiempo de isquemia fría. Estos hallazgos se correlacionaron con el estudio de biopsias posteriores y la posible aparición de rechazo humoral. En las subsiguientes biopsias de los días $3,6 \pm 1,1$ no se observó ningún rechazo humoral ni agudo en el estudio histológico realizado.

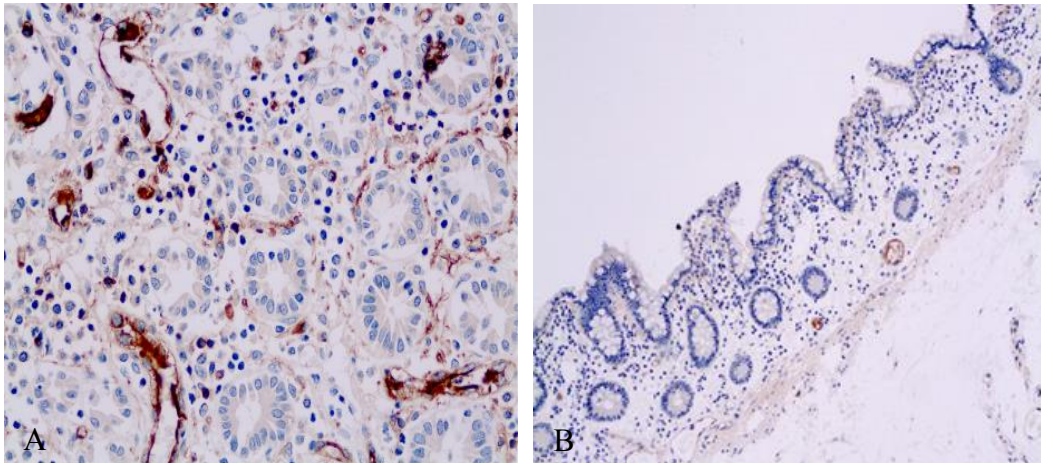


Figura 25. Tipos de tinción de C4d: difusa (A) y focal (B)

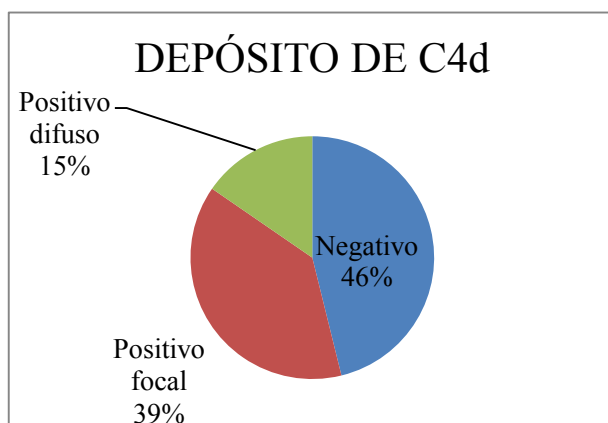


Gráfico 11. Distribución y porcentaje de los depósitos de C4d.

DIAGNÓSTICOS DE RECHAZO AGUDO O CELULAR:**Rechazo agudo:**

Los criterios histológicos manejados fueron reflejados en material y métodos y no sólo fueron necesarios para el diagnóstico de ataque inmune establecido (rechazo). También fue preciso estudiar, diagnosticar y tabular aquellas situaciones de ataque inmune indeterminado (IRA) y los cambios regenerativos/reparativos que se producen en la mucosa tras la lesión. De 871 biopsias totales de injerto intestinal ($868,6 \pm 670$) se diagnosticó RA establecido en 63 biopsias (7,2%) de las cuales 26 correspondían a un grado 3, 17 a un RA-2 y 21 a un RA-1. El diagnóstico de IRA se realizó en 53 biopsias (6%) y de mucosa reparativa en 24 biopsias (2,7%).

El número de episodios de RA que se diagnosticaron fueron de 12 episodios en 9 injertos, habiendo tres injertos con dos episodios de RA cada uno de ellos. De los 12 episodios seis correspondieron a un grado 3, tres grado 2 y otros 3 grado 1 (Gráfico 12). De los 9 injertos, 77,7% eran TIA y 22,3% MTV.



Gráfico 12. Distribución de los episodios de RA según el grado

El inicio de los episodios osciló entre el día 7° y 499° con una media de 178 ± 159 y mediana de 131.5. El ataque inmune se manifestó en su comienzo como intenso en 2 ocasiones, moderado en 3, leve en 4 e IRA en 3.

La duración de los episodios osciló entre 3 y 92 días con una media de 26 ± 15 . Los episodios de mayor duración fueron los grados 3, con una media de $46,2 \pm 31,4$, seguido por los grado 2 con una media de 22 días y por último los grado 1 con una media de 10 días de duración. Se

observó una correlación positiva significativa bilateral ($\rho= 0.661$, $p<0.05$) entre la duración de los episodios y el grado de rechazo.

En cuanto a la evolución de los injertos con rechazo de los seis episodios grado 3, en tres se perdió el injerto, siendo necesario realizar el explante del injerto los días post-trasplante 77°, 158° y 511° respectivamente. En el injerto de explante del día 77 macroscópicamente se observaron adherencias entre las asas intestinales y depósito de fibrina en la superficie intestinal y en la luz intestinal conservación de las válvulas y mucosa con congestión y lesiones focales puntiformes. En el estudio histológico se observó pérdida subtotal del epitelio con frecuentes apoptosis en las criptas conservadas y trombosis vasculares. En una zona engrosada se observó también un denso infiltrado plasmocelular. El injerto explantado el día 158 correspondía al segundo injerto de un paciente. Macroscópicamente se observó adherencias, depósito de fibrina y adenopatías mesentéricas. La mucosa mostraba áreas congestivas y otras denudadas con presencia de pseudomembranas (Figura 26). Microscópicamente se observó erosión y denudación del epitelio junto con otras zonas que mostraban signos de regeneración. Las pseudomembranas estaban constituidas por mallas de fibrina y restos de detritus celular. Las lesiones se limitaban a la mucosa. El tercer injerto explantado el día 511 presentaba en la superficie áreas violáceas que a la apertura correspondían con zonas de mucosa aplanada. En estas zonas se observó en el estudio microscópico pérdida de vellosidades y criptas con vasos congestivos en lámina propia. Se identificaron escasas criptas permeadas por eosinófilos. Los dos episodios de RA-3, los grados 2 y grado 1 se resolvieron con el tratamiento inmunosupresor indicado.

La forma de resolverse el RA fue como IRA y/o mucosa reparativa en 5 de los episodios y cambios mínimos/mucosa reparativa en tres. También hubo diagnóstico de IRA que no alcanzó criterios definitivos de RA en 16 ocasiones, en un total de 9 injertos. La duración de estos eventos de ataque inmune indeterminado osciló entre 1 y 31 días, con una media de 5 días (Tabla 14).

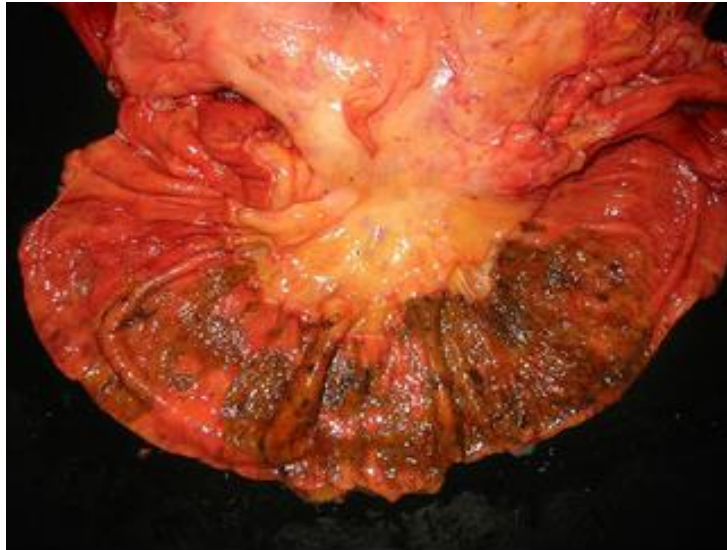


Figura 26. Pieza de explante con RA-3. En la mucosa se observaban extensas áreas congestivas y denudadas con pérdida de la mucosa.

Tabla 14. Resumen de los episodios de RA.

Episodio	P	Tipo TI	Día Inicio	Día Final	Duración	Dco. Inicio	Dco. Final	Grado máximo alcanzado	Evolución
1	1	IA	128	136	8	IRA	IRA	RA-1	Resol
2	1	IA	232	236	4	IRA	IRA	RA-1	Resol
3	2	MVC	46	65	19	RA-1	IRA	RA-1	Resol
4	3	IA	60	98	38	RA-1	IRA	RA-2	Resol
5	4	IA	47	55	8	IRA	MR	RA-2	Resol
6	4	IA	470	490	20	RA-2	IRA+MR	RA-2	Resol
7	5	IA	49	77	28	RA-1	RA-3	RA-3	Explante
8	6	IA	135	158	23	RA-3	RA-3	RA-3	ReTx
9	7	IA	136	223	87	RA-2	MR	RA-3	Resol
10	7	IA	499	511	12	RA-3	RA-3	RA-3	Explante
11	8	MVC	7	42	35	IRA+MR	MR	RA-3	Resol
12	9	IA	328	420	92	RA-2	MR	RA-3	Resol

IA: Intestinal aislado, MVC: Multivisceral, P: paciente, Resol: Resolución, ReTx: retrasplante

Para comprender mejor la evolución de cada paciente se describen y representan cada uno de los eventos de RA.

Evolución de los RA-1 (Gráfico 13):

El primer paciente presentó dos episodios de RA. El primero se inició el día 128 y duró hasta el día 136 con una duración total de 8 días. Los diagnósticos de inicio y final fueron de IRA. El segundo episodio se inició el día 232 y finalizó el día 236, con una duración total de 4 días. El diagnóstico de inicio fue RA-1 y el diagnóstico final IRA.

En el paciente 2 el episodio de rechazo se inició el día 46 post-trasplante con un diagnóstico de inicio de RA, una duración de 19 días y un diagnóstico final de IRA el día 65. También presentó dos episodios de IRA mantenido. El primero fue previo al rechazo durando 13 días desde el día post-trasplante 19 al 32. El segundo episodio fue posterior, iniciándose el día 86 y finalizando el día 117, con una duración total de 31 días.

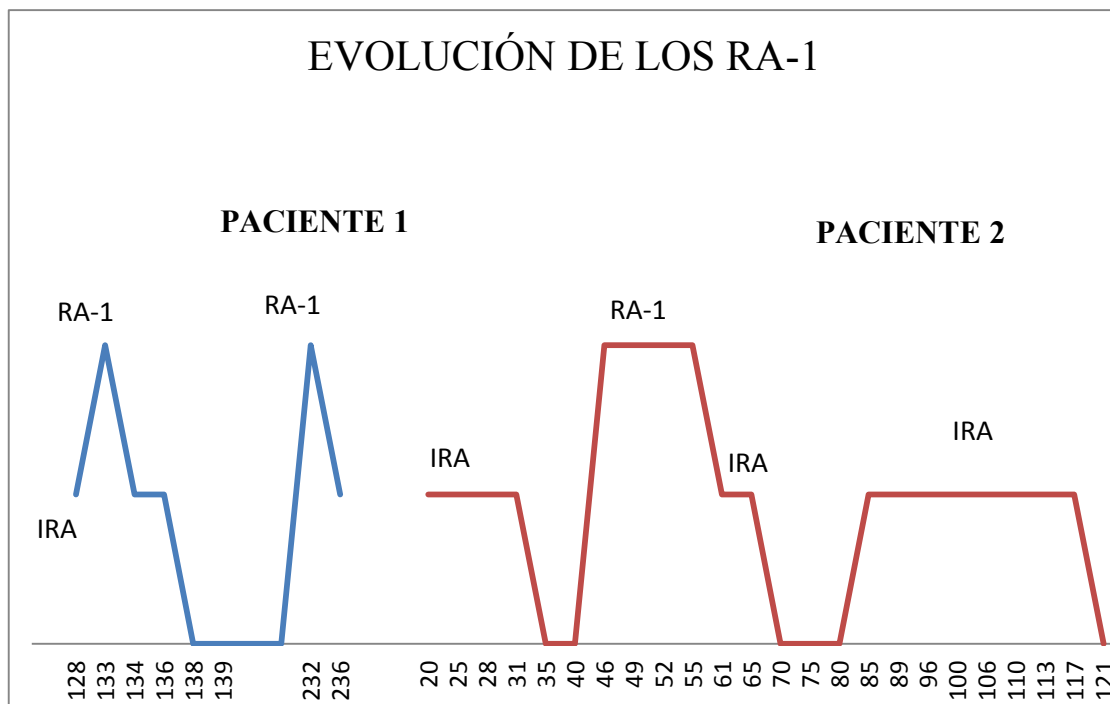


Gráfico 13. Evolución de los pacientes 1 y 2 con episodios de RA-1.

Evolución de los RA-2 (Gráficos 14-15):

El paciente 3 presentó un episodio de RA-2 iniciado el día 60 con diagnóstico inicial de RA-1. Evolucionó a RA-2 el día 62 y remitiendo el día 65 pero manteniendo el diagnóstico de IRA entre los días 65 y 72. El día 76 es diagnosticado de RA-1, evolucionando de nuevo hasta RA-2 el día 80 y manteniéndose hasta el día 87. La salida del episodio de rechazo se produjo el día 98 con un diagnóstico de IRA. La duración total del episodio fue de 38 días (Gráfico 14).

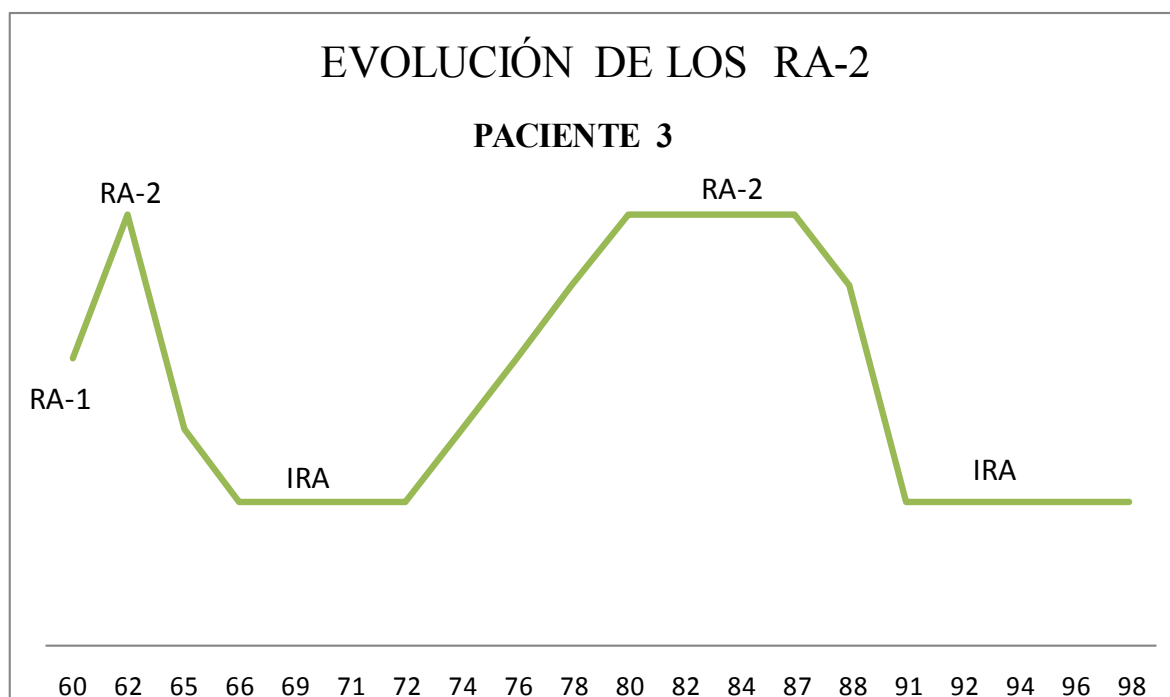


Gráfico 14. Evolución del paciente 3 con un episodio de RA-2.

El paciente 4 presentó dos episodios de RA-2. El primero se inició el día 47 con un diagnóstico de inicio de IRA, alcanzó el RA-2 el día 50, duró 8 días, hasta el día 55 post-trasplante con el diagnóstico final de MR. El segundo episodio se inició como RA-2 el día 470, manteniéndose el grado hasta el día 482. El día 485 bajó hasta IRA, produciéndose la salida del rechazo el día 490 bajo el diagnóstico de IRA. La duración total del episodio fue de 20 días (Gráfico 15).

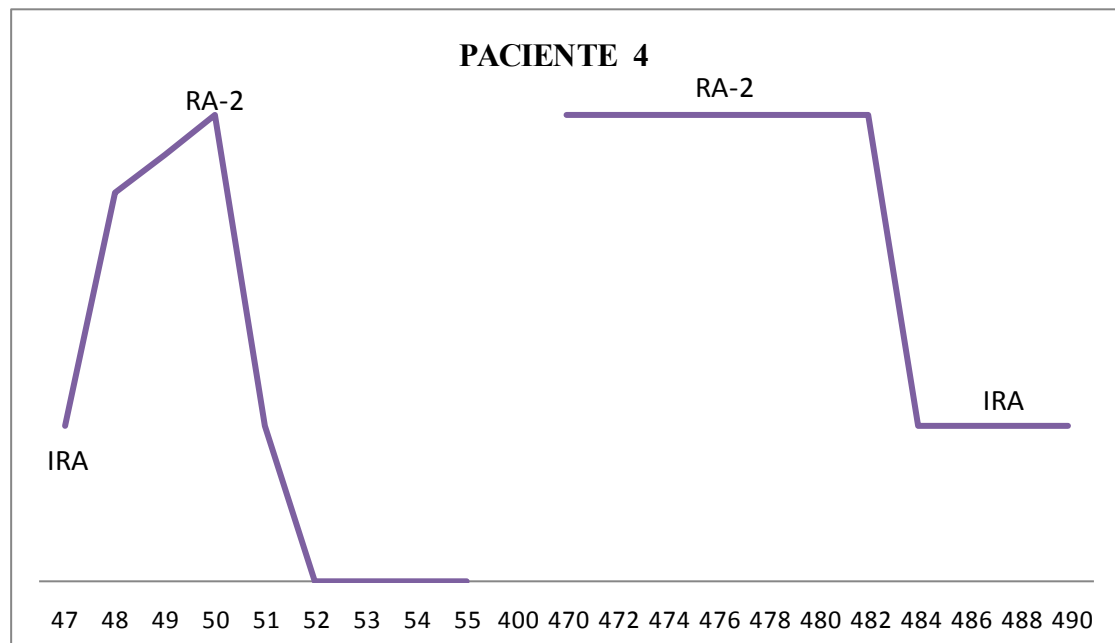


Gráfico 15. Evolución del paciente 4 con un episodio de RA-2

Evolución de los RA-3 (Gráficos 16-19):

El paciente 5 mostró un episodio de RA-3 iniciado el día 49 como RA-1 y mantenido con este diagnóstico hasta el día 52. El día 56 evoluciona hasta RA-2, que se mantuvo hasta el día 59. Pero evoluciona rápidamente hasta RA-3 el día 73, siendo necesario su explante el día 77. La duración total del episodio fue de 28 días.

El paciente 6 debutó como RA-3 el día 135, se matuvo por 23 días, realizándose retrasplante el día 159 (Gráfico 16).

El paciente 7 mostró dos episodios de RA-3. El primero se inició el día 136 con un diagnóstico inicial de RA-2, administrándose corticoide. Este se mantuvo hasta el día 143 en que se administra OKT3, remitiendo el día 150. El día 153 se diagnostica de IRA y SLPT-3. El diagnóstico de SLPT condiciona un ajuste de la inmunosupresión ya que es el tratamiento de primera línea. Evoluciona hasta RA-3 el día 164, manteniendo también el diagnóstico de SLPT-3 los días 164, 168, 172, 178 y 182. El episodio de rechazo parece remitir entre el día 171 y 182. Posteriormente reaparece acompañado del diagnóstico de HP y se mantiene hasta el día 188. El día 192 remite y se diagnostica de mucosa reparativa. El día 206 presenta un diagnóstico de RA-1 y el día 211 de RA-2, que remite el día 216. La salida final del episodio

de rechazo se produce el día 230 con el diagnóstico de mucosa reparativa. La duración de este primer episodio fue de 87 días. El segundo episodio se inició como RA-3 el día 499 hasta el día 511, en que se realizó el explante. Se acompañó del diagnóstico de HP y RC (Gráfico 17).

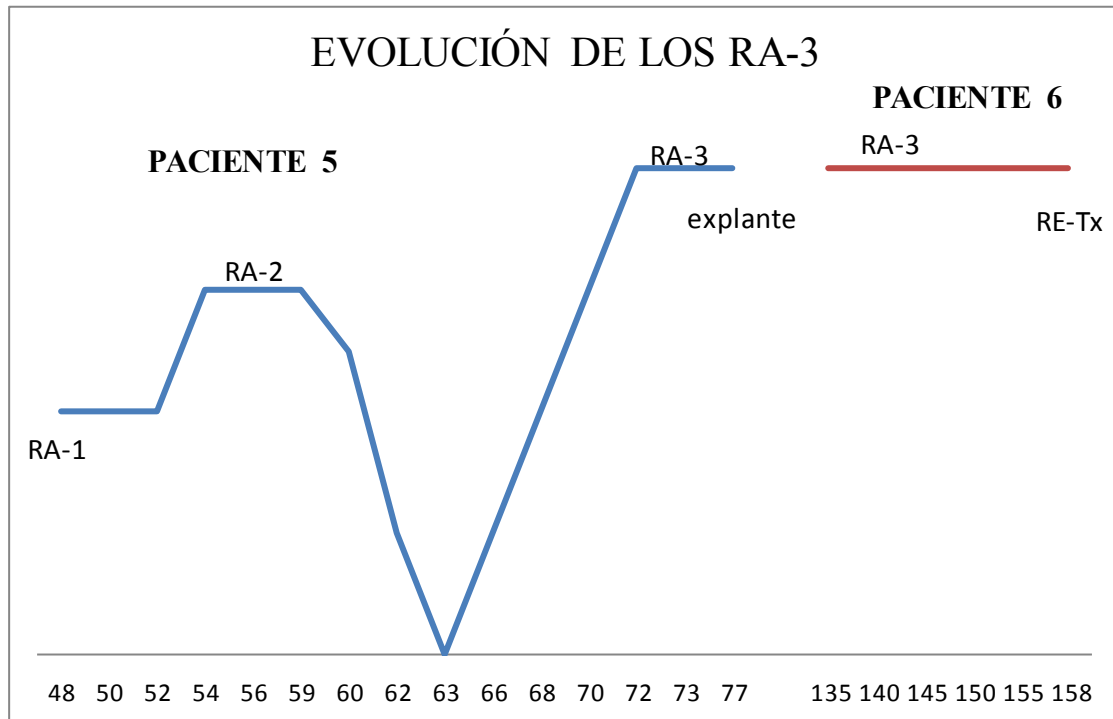


Gráfico 16. Evolución de los pacientes 5 y 6 con RA-3

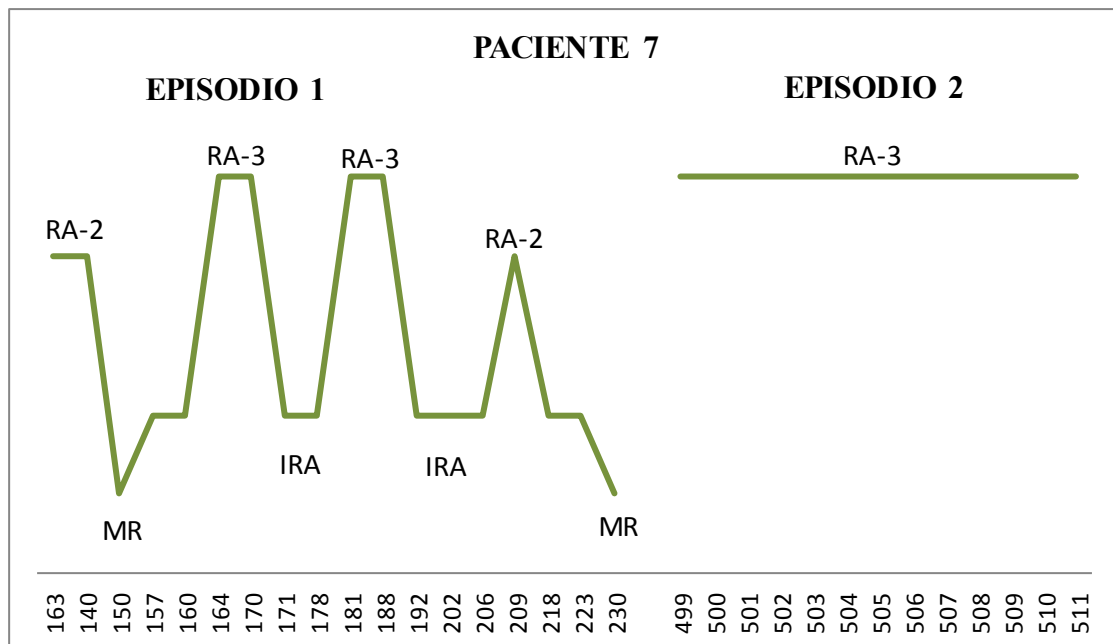


Gráfico 17. Evolución del paciente 7 con RA-3

El paciente 8 inició el episodio el día 7 con un diagnóstico inicial de IRA y fue evolucionando a RA-1 el día 14, RA-2 el día 18 y RA-3 el día 23. Con el tratamiento oportuno remitió hasta IR el día 33 y mostró otro diagnóstico de RA-1 hasta el día 42. La salida de rechazo fue el día 46 en forma de MR. Este diagnóstico se mantuvo de forma sostenida hasta el día 80 (Gráfico 18).

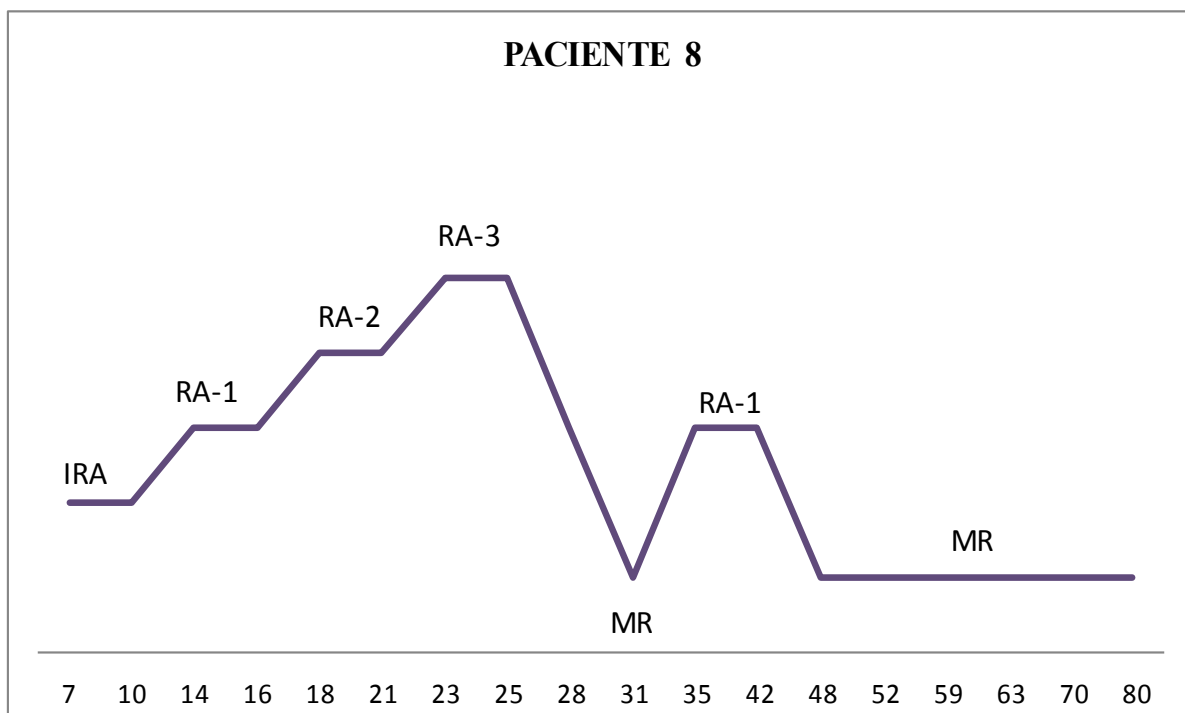


Gráfico 18. Evolución del paciente 8 con RA-3

El paciente 9 presentó un RA comenzó el episodio como RA-2 el día 328 pos-trasplante. Evolucionó hasta el grado 3 el día 333 y el 341. Este último diagnóstico se mantuvo hasta el día 355. Posteriormente fue remitiendo hasta salir del rechazo el día 420 en forma de mucosa reparativa. La duración total del episodio fue de 92 días (gráfico 19).

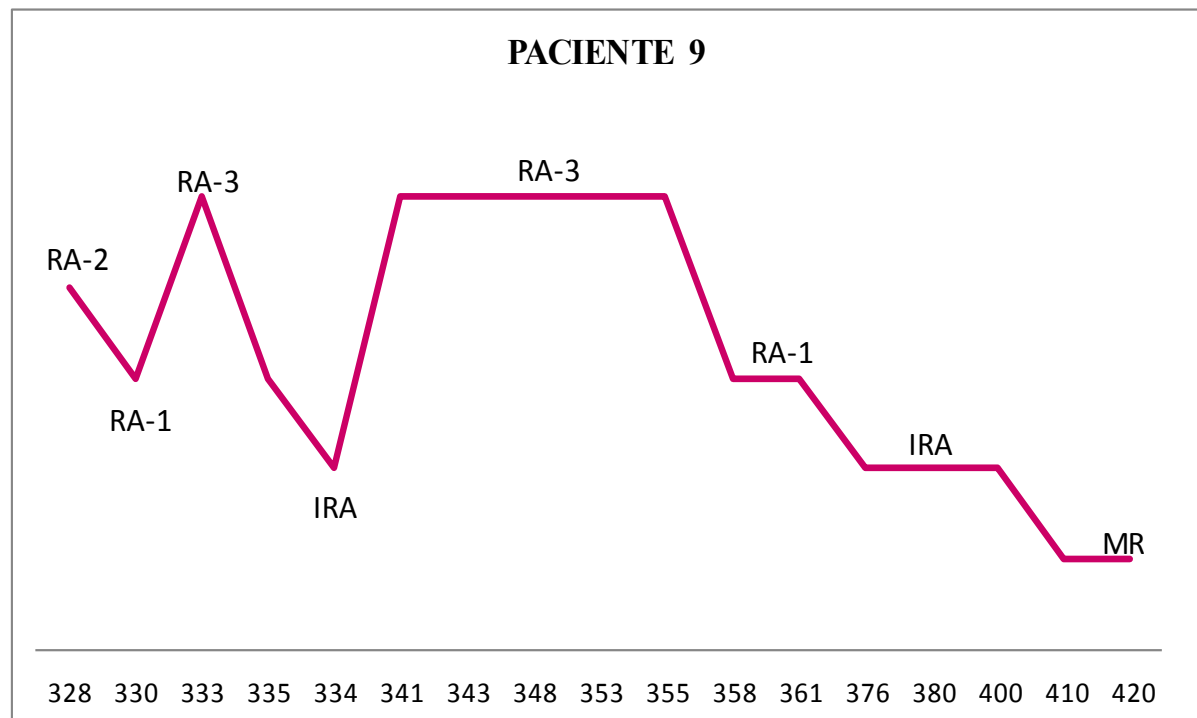


Gráfico 19. Episodio del paciente 9 con RA-3.

Se observó irregularidad en el momento de aparición de los eventos de rechazo, habiendo 4 que lo hicieron en los 3 primeros meses, 3 a los seis meses y 5 pasados este periodo. Siendo más frecuentes los eventos de aparición tardía. La evolución también fue errática, sobre todo en los rechazos de mayor grado y en concreto en el caso asociado a tratamiento con OKT3 y desarrollo de SLPT. Tres pacientes tuvieron recidiva del ataque inmune. La recidiva se dio en todos los grados y con el mismo grado que en el primer episodio. No se observó ninguna asociación estadísticamente significativa entre el tipo de trasplante, la duración del episodio, el grado alcanzado y la evolución. Solamente se observó asociación significativa entre la duración del episodio y el grado de RA alcanzado.

Tipificación de la población linfoide en el rechazo agudo:

Los episodios de RA se observaron entre el día 7 y el día 499 postrasplante (media: 265+/-185). Se detectó un aumento de células linfoplasmocitarias en la lámina propia en todos estos episodios y grados. La evaluación de su población linfoide se resume en la tabla 15.

Tabla 15. Evaluación y distribución de la población linfoide en mucosa intestinal con/sin RA.

CASO	Grado RA	CD3	CD4	CD8	CD20	CD79 α
1	1	+/-	++	+/-	+/-	+/-
2	1	+	+++	++ INTRAEP	+/-	+
3	2	+/-	++++	++	+/-	+
4	2	+ PARAFOL	++++	+	++	+
5	3	+	++	+	+/-	+/-
6	3	+/-	+++	+/-	+	++
7	0 (control)	+/-	++	+ INTRAEP	+/-	++
8	0 (control)	+/-	++	+	+	++
9	0 (control TI)	+/-	+++	+ INTRAEP	+ FOL	++
10	0 (control TI)	+	+++	+ INTRAEP	+	++

+/- : aislados elementos celulares con inmunotinción positiva, Fol: Folicular, Intraep: intraepitelial, Parafol: parafolicular.

Existió predominio de linfocitos CD4 positivos en los infiltrados de la lámina propia de la mucosa normal, de la injertada sin rechazo y de la que está sufriendo un ataque inmune, sin clara diferencia de densidad entre ellas. Tampoco pudieron objetivarse variaciones en la densidad absoluta y relativa de la población linfoide CD8 y de la población linfoide B (CD20 y CD79 α), ni un patrón de incremento o de depleción definido.

La valoración inmunohistoquímica de la densidad y/o de la proporción de las poblaciones linfoides T y B durante los episodios de RA en cualquiera de sus grados no aporta datos de ayuda para el diagnóstico morfológico de dicho ataque inmune en el injerto intestinal.

Diagnósticos de “mucosa reparativa o regenerativa”

En 7 de 16 injertos se observaron cambios relacionados con la mucosa reparativa. Los hallazgos más frecuentes fueron pérdida de glándulas, distorsión de la arquitectura y presencia de mitosis. Las apoptosis y cariorrexis sólo se observaron en dos casos y con relación con el ataque inmune. En 3 pacientes fue un hallazgo puntual, no asociado a inflamación y situado adyacente a una erosión o a una úlcera sin especificidad (episodios 2 y 7). El hallazgo se repitió en uno (episodio 2) y entonces se asoció a un diagnóstico de IRA que se resolvió sin tratamiento adicional. En 5 pacientes fue un hallazgo prolongado con duración media de 76

días (intervalo de 32 y 101 días), presentándose de inicio el día 8° en el caso más temprano y el 348° en el más tardío. Este tipo prolongado de mucosa reparativa se observó asociado a algún grado de RA (grado 1 a 3) en 3 de ellos y a un intervalo sin RA pero precedida y seguida de ataque inmune en otro injerto. En el epitelio reparativo se evidenció apoptosis y cariorrexis en 2 pacientes. En un caso la mucosa reparativa, que se objetivó durante 101 días comenzando el día 8°, no se asoció a ataque inmune sino a microtrombos capilares en mucosa subyacente o adyacente, que se inició el día 34, con una duración de 84 días. Entre los 8 casos en los que no se evidenció mucosa reparativa en ninguna biopsia de seguimiento existieron 4 injertos que presentaron episodios de RA (dos de grado 1, uno grado 2 y otro grado 3) (Tabla 16)

Tabla 16. Mucosa reparativa en TI.

Pac.	Especímen	Duración (días)	Asociación diagnóstica	Inflamación en LP	Ulceración	Apoptosis Cariorrexis
1	12	71	RA-2	Escasa	No	Si
2	1 y 1	6 y 52	No	No	Si	No
3	16	101	Microtrombos Dia 34→118	Escasa	Si	No
4	5	89	RA y SLPT	Escasa	No	No
5	6	32	RA-3	No	Si	No
6	12	90	RA-3	No	Si	Sí
7	1	29	No	No	Si	No

Pac: Paciente, RA. Rechazo agudo, SLPT: Síndrome linfoproliferativo post-trasplante.

En resumen:

1.- La mucosa reparativa puede ser un hallazgo prolongado durante semanas en la mucosa del injerto intestinal. 2.- En una mayoría de los casos de nuestra serie se asoció a ataque inmune pudiendo albergar en su seno las características de éste (apoptosis, inflamación) o no. 3.- Su presencia no siempre fue seguida de desaparición del RA. 4.- Un caso prolongado sin asociación a ataque inmune mostró microtrombos capilares persistentes, atribuibles a isquemia crónica de la mucosa. 5.- La mucosa reparativa posiblemente es indicativa de

reepitelización de erosiones o desprendimientos epiteliales secundarios a rechazos intensos o a isquemia.

DISTRIBUCIÓN DE DIAGNÓSTICOS HISTOLÓGICOS EN BIOPSIAS DEL INJERTO EN INFECCIONES:

Infecciones:

Los datos morfológicos que permitieron diagnosticar infección fueron de aparición fortuita en la observación por el patólogo sin especial indicación de la biopsia del injerto para su búsqueda. De esta forma se descubrieron infecciones por CMV y por adenovirus en 6 de los 15 pacientes (40%).

El CMV apareció como inclusión sospechosa en 4 biopsias (26%) en los días 57, 77, 159 y 310 post-trasplante. La IHQ para evidenciar infección en los casos sospechosos solo demostró positividad en 2 muestras (Figura 27). La comprobación de la serología receptor/donante en los dos casos demostrados por IHQ fue R+/D- en uno y R-/D+ en otro. La duración máxima de la infección fue de 19 días en un paciente. En dos casos la infección se desarrolló posteriormente a un diagnóstico previo de RA y a la consecuente adicional inmunosupresión.

El adenovirus apareció en dos pacientes, presentando uno de ellos dos episodios. Se observaron inclusiones enterocitarias sospechosas (Figura 28) los días post-trasplante 51°, 80° y 154°. La duración de los episodios osciló entre 7 y 25 días. En un caso se pudo confirmar la presencia del virus mediante estudio ultraestructural (Figura 29). Hubo diagnóstico previo de RA e inmunosupresión adicional en un caso.

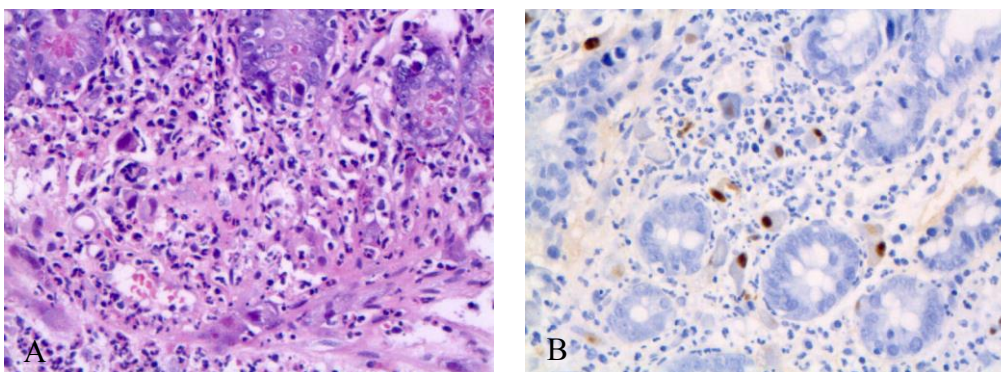


Figura 27. Presencia de inclusiones víricas mesenquimales y epiteliales compatibles con CMV (A). Confirmación inmunohistoquímica con tinción nuclear positiva en las células infectadas (B).

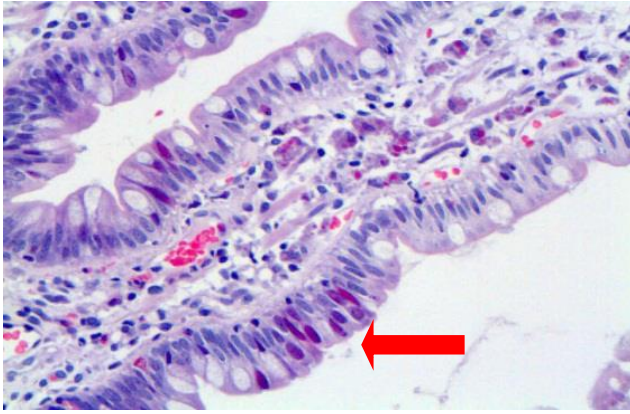


Figura 28. Inclusiones nucleares víricas compatibles con adenovirus (flecha roja).

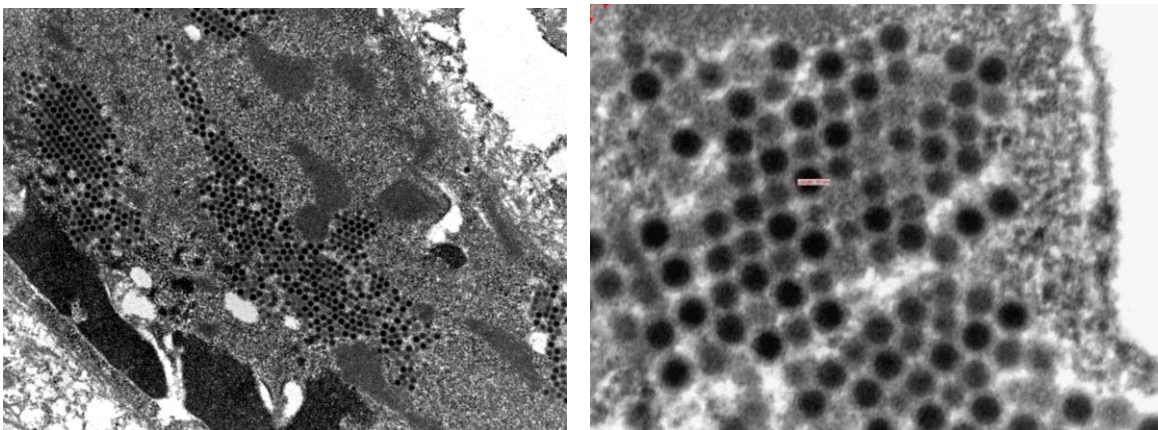


Figura 29. Partículas víricas intranucleares de adenovirus. Estudio ultraestructural (20000x y 100000x)

Las infecciones fúngicas se encontraron en el estudio necrópico de los pacientes, los hallazgos se describen en el apartado de injertos perdidos.

DIAGNÓSTICOS DE ENFERMEDAD LINFOPROLIFERATIVA POST-TRASPLANTE EN BIOPSIAS DEL INJERTO:

Con este resultado diagnóstico se estudiaron 31 biopsias de injerto y una pieza de explante. Aparte de las biopsias de mucosa de injerto intestinal y de este injerto resecado, se estudiaron 8 biopsias de médula ósea (MO). Se realizaron 24 estudios de IHQ para la tipificación del infiltrado linfoplasmocitario e HIS en 18 muestras para detección del VEB. La serología de los pacientes de la serie para VEB, realizada con las determinaciones de anti-EBNA y anti VCA) fue D+/R+, salvo un caso que fue D-/R-. Se diagnosticaron 7 SLPT en 6 pacientes. De ellos el 71,4% fueron hiperplasias plasmocíticas (HP) (Fig.30), diagnosticadas en mucosa del

injerto los días post-trasplante 77°, 156°, 203°, 511° y 1036°. El 28,6% restante correspondió a 2 SLPT monomorfos (Figura 31) de extirpe B localizados en mucosa, los días 148° y 157°. No se ha observado ningún SLPT sistémico. En un mismo paciente se dieron dos eventos de SLPT. El primero se diagnosticó como PTLD monomorfo, el día 157 post-trasplante, con una duración de 35 días. Durante este mismo evento, el paciente presentó RA, iniciado el día 168 post-trasplante, con una duración de 17 días y un grado máximo de RA-3. El segundo diagnóstico fue de HP, el día 511 post-trasplante, en la pieza de explante del injerto. Junto con este hallazgo, en esta pieza también se observó RA y RC. La naturaleza B de las células proliferadas se demostró con inmunorreacción positiva membranosa para los anticuerpos CD20 y CD79alfa (Figuras 32A y B) El índice proliferativo (Ki-67) fue elevado (>50%) lo que indica que se trataba de una proliferación linfoide de alto grado (Figura32C). El carácter policlonal de las neoplasias se ha demostrado con ausencia de restricción para inmunoglobulinas kappa y lambda. La HIS fue positiva para detección de VEB en 4 casos (Figura 32 D).

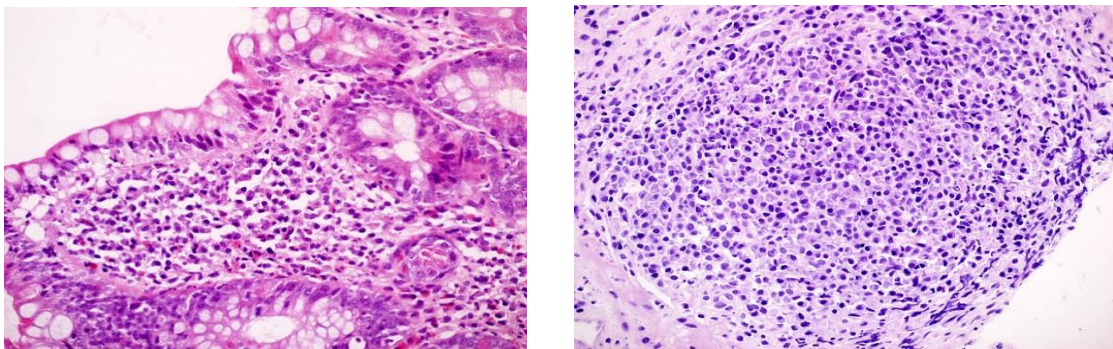


Figura 30. Histología HP. Existe un infiltrado con predominio de células plasmáticas

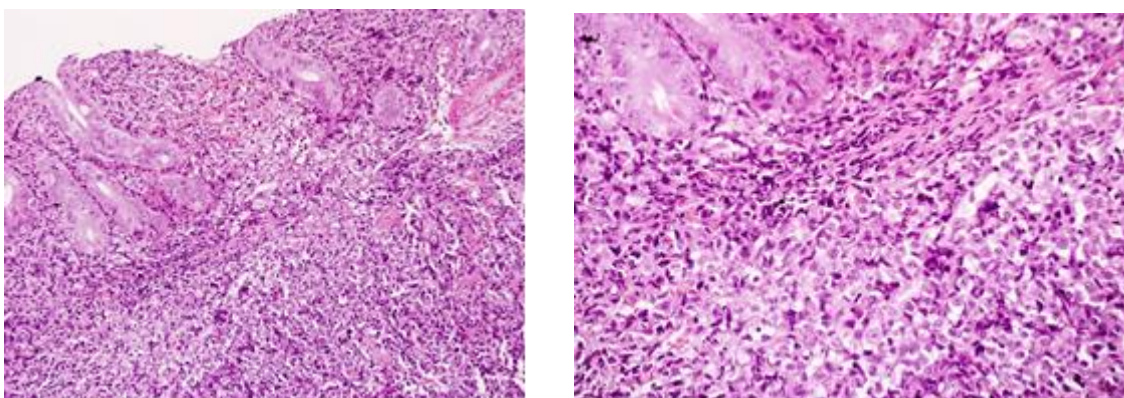


Figura 31. Histología del SLPT monomorfo: infiltrado difuso de linfocitos atípicos en lámina propia.

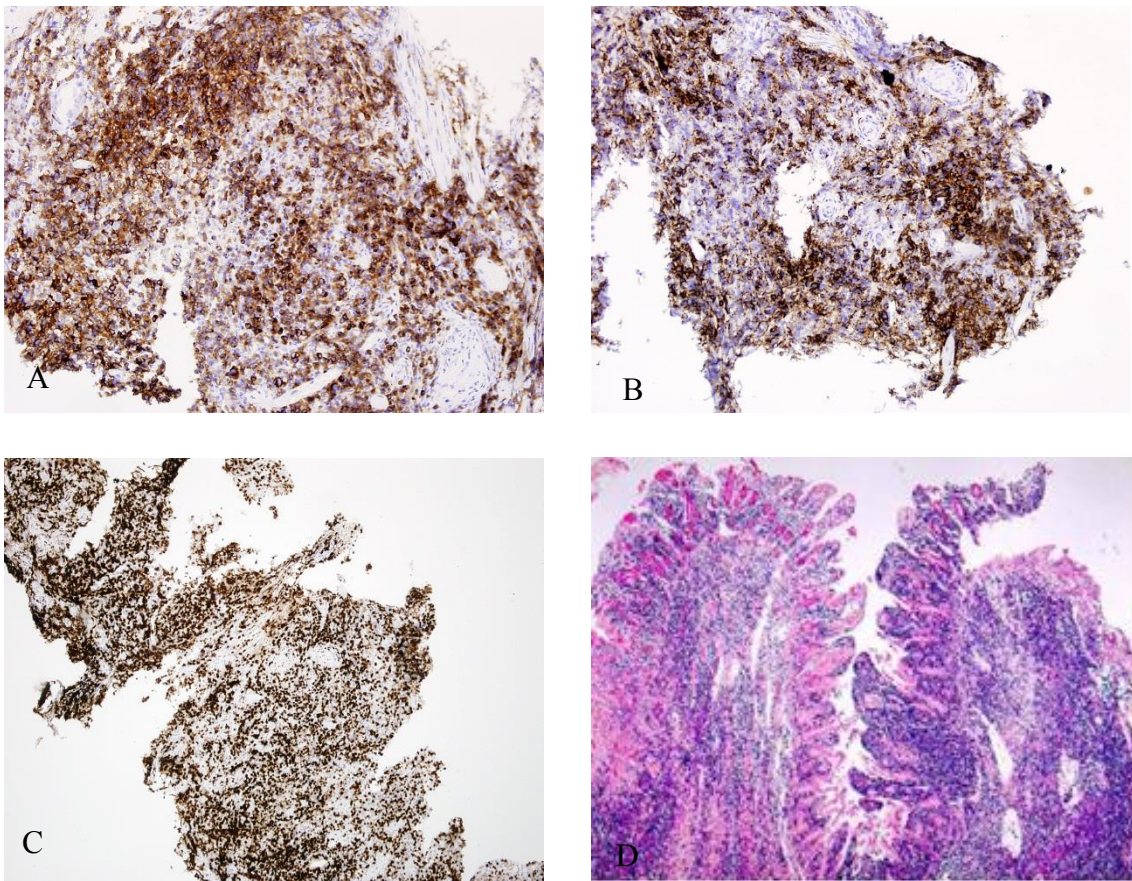


Figura 32. Estudio IHQ de un SLPT con tinción positiva para CD 20 (A), CD 79 α (B) y un elevado índice proliferativo ki-67 (C). Estudio de HIS positivo para VEB en los núcleos de las células infectadas (D).

Respecto de la evolución de los pacientes, tres HP y un SLPT monomorfo se resolvieron con el manejo terapéutico adecuado, que consistió en una reducción de la inmunosupresión, no completa (debido al existente riesgo de rechazo) manteniéndose corticoides y tacrolimus junto con el tratamiento antiviral con ganciclovir e inmunoglobulina intravenosa. En los tres casos restantes (2 HP y un SLPT monomorfo) se realizó el diagnóstico en el explante del injerto. El SLP monomorfo afectó de forma parcheada al injerto y a sus ganglios con trombosis mesentérica secundaria que provocó una necrosis isquémica intestinal segmentaria (Figura 33). Las células proliferadas eran monomorfas B (CD20 + y CD79alfa +) y con restricción de inmunoglobulinas kappa y lambda.

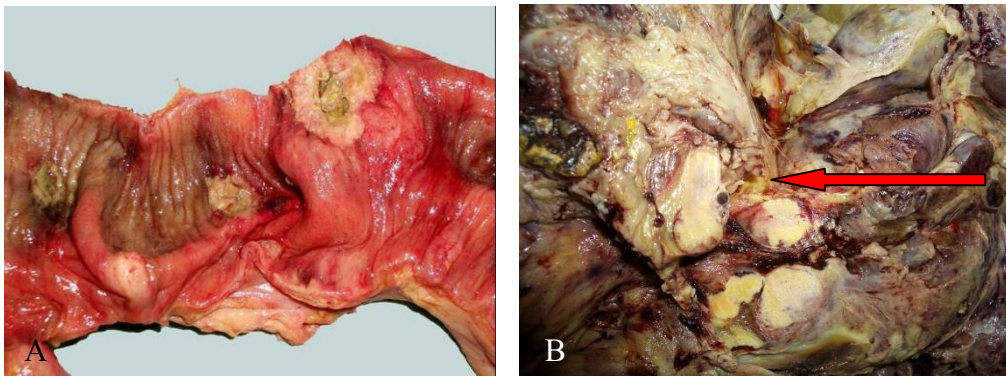


Figura 33. Pieza de explante con SLPT monomorfo. Sobre la mucosa se observaban extensas pseudomembranas fibrinosas y la mucosa tenía un aspecto enrojecido junto con ulceraciones (A). En el mesenterio se identificaban múltiples adenopatías (flecha) constituyendo un conglomerado que comprimía los vasos mesentéricos (B).

MISCELÁNEA DE DIAGNÓSTICOS EN BIOPSIAS DEL INJERTO:

Durante el estudio histopatológico también se encontraron hallazgos microscópicos, que si bien no tenían un claro papel en la patología del injerto, sí eran lo suficientemente relevantes como para ser nombrados en el DAP.

El **kaixelato** es una resina de intercambio iónico empleada para el manejo de la hiperpotasemia, aumentando la excreción intestinal de potasio. En las biopsias estudiadas se ha observado la presencia de la resina en la submucosa junto con la formación de granulomas a cuerpo extraño (Figura 34).

Los **microtrombos** se observaron de forma esporádica. Sólo en un caso aparecieron de forma recurrente desde el día 34 al 118 post-trasplante. Sin asociarse a claro ataque inmune, pero relacionado con diagnósticos de inflamación aguda inespecífica y hallazgos indeterminados para rechazo.

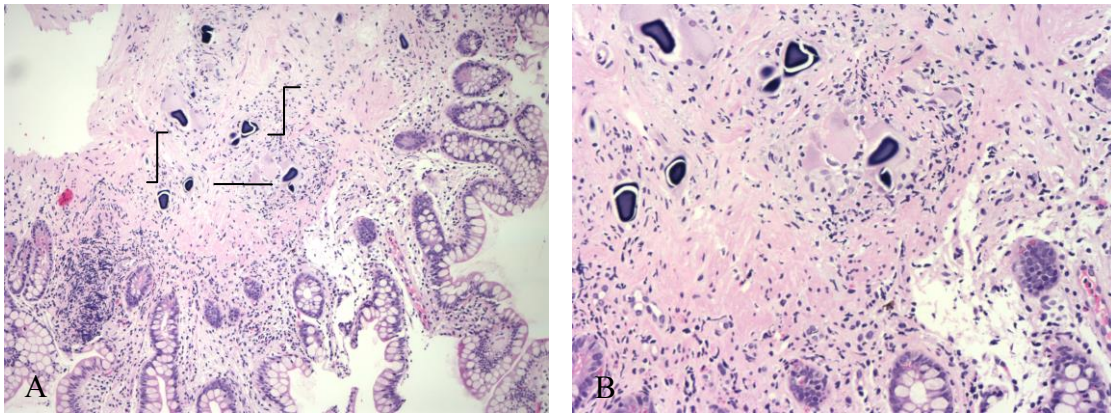


Figura 34. Presencia de partículas irregulares moradas oscuras de kaexalato (conectores) en la submucosa (A) y reacción gigantocelular tipo cuerpo extraño asociada (B).

La calcificación de la lámina propia se observó en la biopsia del injerto de un paciente el día 1877 post-trasplante (Figura 35).

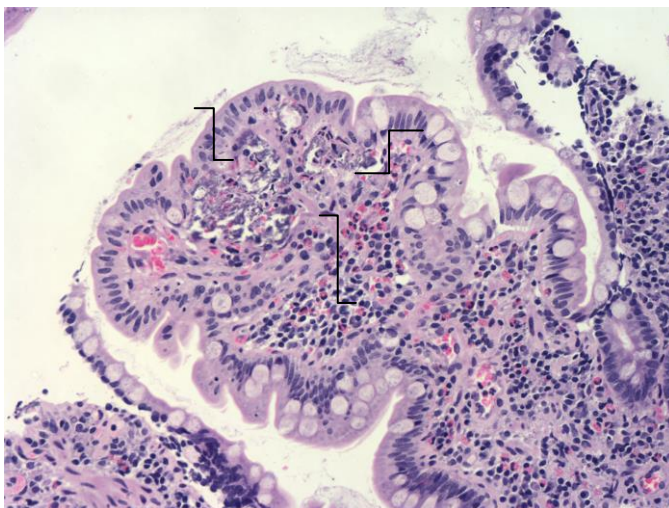


Figura 35. Calcificación en lámina propia de una vellosidad (conectores).

HISTOPATOLOGÍA EN BIOPSIAS NO INTESTINALES DE LOS PACIENTES TRASPLANTADOS:

También se estudiaron 65 biopsias no intestinales. De ellas 8 fueron de médula ósea realizadas para el estudio de extensión de los SLPT y con el diagnóstico de hipocelularidad en cinco de ellas. Cinco cutáneas diagnosticándose EICH en un caso, dermatitis de interfase en otro y cuadros infecciosos por herpes virus y mucor en otros dos. Se observó un único episodio de EICH agudo grado dos en un paciente con TMV, en una biopsia cutánea realizada el día 14 post-trasplante (Figura 36). En la siguiente biopsia realizada el día 17, el cuadro había remitido.

La evaluación de la hepatopatía asociada a NTP y la monitorización de los injertos TMV exigen de la realización de biopsias hepáticas. Se realizaron un total de 11 biopsias hepáticas diagnosticándose cambios de preservación en un paciente en las biopsias correspondientes a los días 5 y 6 post-trasplante, hepatotoxicidad en dos paciente en los días 23 y 73 respectivamente y en otro paciente cambios necroinflamatorios inespecíficos los día 15 y 103. En tres casos de TMV también se realizó biopsia endoscópica alta y en una se realizó el diagnóstico de rechazo agudo en muestra de mucosa duodenal del día 48 post-trasplante y en el contexto clínico de un RA-3. Las otras dos restantes correspondieron a una mucosa gástrica con gastritis superficial y a una mucosa esofágica con cambios mínimos.

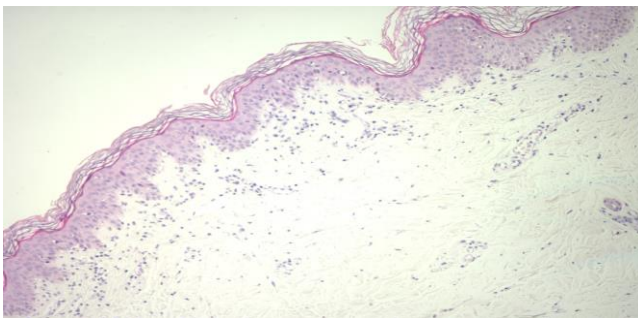


Figura 36. Biopsia cutánea diagnosticada de EICH en un paciente con TMV. Se observa un infiltrado de predominio linfocitario que permea la epidermis junto con la presencia de queratinocitos apoptóticos.

En un paciente con síndrome de Gardner se realizaron colonoscopias periódicas para despistaje de adenocarcinoma colorrectal, con la resección de 26 adenomas tubulares y 3 adenomas túbulo-vellosos. Otros especímenes histológicos estudiados en los pacientes trasplantados pero sin relación directa con el trasplante fueron un tiroides con un carcinoma papilar de tiroides, una biopsia bronquial con cambios mínimos, una biopsia renal con necrosis tubular aguda y un pericardio sin evidencia de malignidad. También se analizaron 8 citologías.

RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS HISTOPATOLÓGICOS EN LOS INJERTOS PERDIDOS:

Se perdieron 8 injertos (47% de los injertos) de 7 pacientes (46,6% de los pacientes) 3 de ellos MTV y 5 TIA. En 5 se estudió sólo el injerto resecado (explante quirúrgico) y en 2 se realizó la autopsia. En un paciente fallecido no se autorizó el estudio necrópsico ni se resecó el injerto, aunque sí se estudió una biopsia relacionada con su última situación (Tabla 17).

Injertos resecados (explantes)

Se estudiaron cinco explantes de cuatro pacientes, dos injertos correspondían al 2º y 3º trasplante de una misma paciente (pérdida de su 1º injerto por rechazo agudo en otro Centro). Los principales diagnósticos fueron RA-3 y SLPT. En tres se diagnosticó RA-3 correspondiendo a los días post-trasplante 77º, 157º y 503º y 3 por síndrome linfoproliferativo los días 77º, 144º y 503º.

En las piezas de explante de dos pacientes se diagnosticó simultáneamente RA y SLPT. En un paciente el diagnóstico fue de RA-3 junto con HP. En el otro paciente el diagnóstico fue de RA-3, RC focal y HP. Los hallazgos encontrados de RC consistieron en fibrosis de la submucosa y placas ateromatosas en la íntima de los vasos grandes (Figura 37).

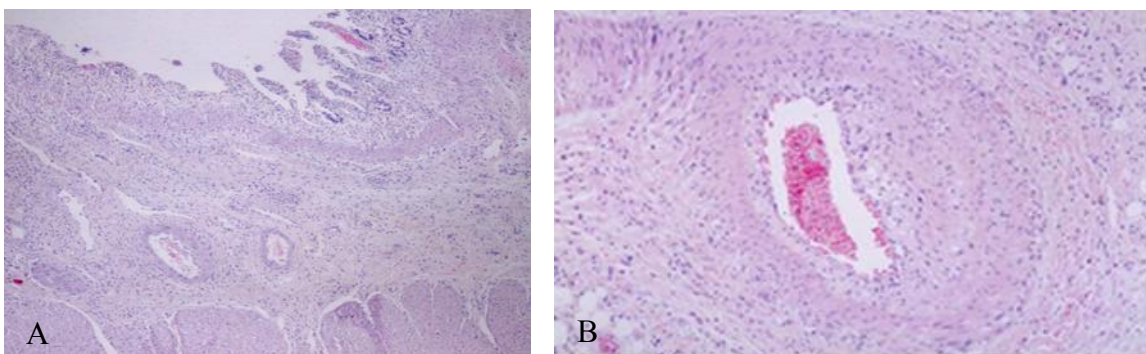


Figura 37. Hallazgos compatibles con RC: Fibrosis de la submucosa (A) y vasculopatía del injerto con hiperplasia de la íntima y estenosis luminal (B).

El último explante realizado se debió a un fallo en la anastomosis vascular del injerto, con un déficit de perfusión de este durante el acto quirúrgico, decidiéndose en ese mismo momento su retirada. El estudio histopatológico no demostró alteraciones relevantes.

Autopsias:

En dos pacientes con TMV se autorizó el estudio autopsico:

- En uno se solicitó el estudio necrópsico debido a la evolución desfavorable del paciente a partir del 7° día postoperatorio. En él se encontraron como hallazgos relevantes pancreatitis aguda necrohemorrágica, infección abdominal secundaria a infección por *Pseudomona aeruginosa* y mielinolisis central y pontina en el estudio del sistema nervioso central (SNC). La causa de muerte que se estableció fue de FMO secundario a shock séptico.

- En el otro se solicitó debido al FMO secundario a una probable infección respiratoria. En el estudio post-mortem se observaron infartos pulmonares bilaterales con aspergillosis pulmonar invasiva y colonización masiva del resto del parénquima por *Acinetobacter* (Figura 38). La causa de muerte que se estableció fue de FMO secundario a sepsis.

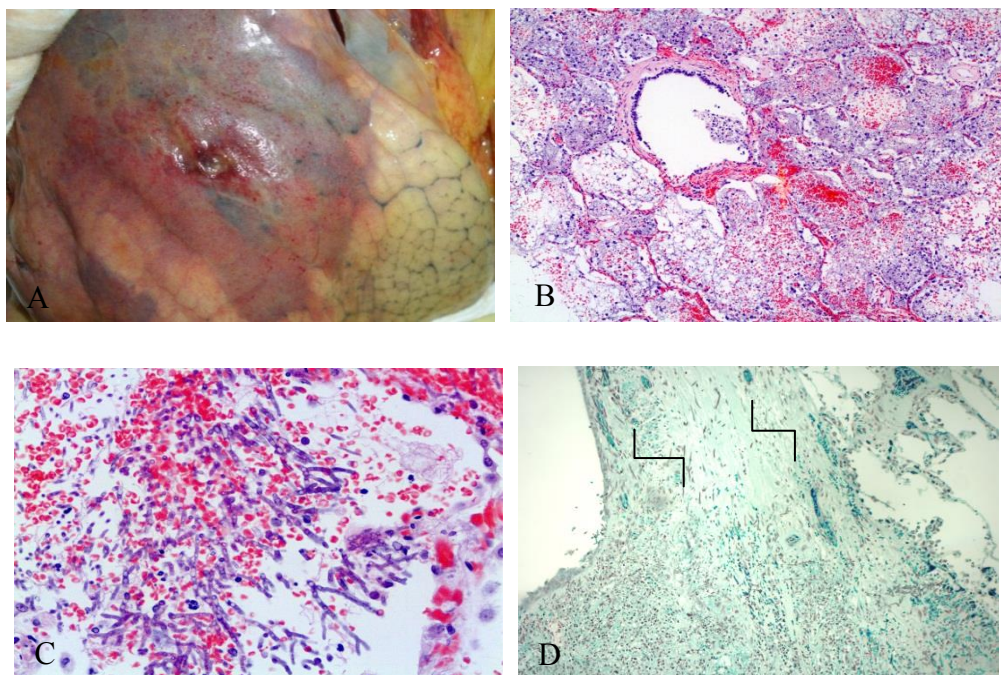


Figura 38. Estudio necrópsico en el que se observan lesiones pulmonares superficiales (A) con colonización masiva de los espacios alveolares por *Acinetobacter* (B) y aspergillosis invasiva con presencia de estructuras fúngicas en la pared vascular (conectores) (C y D).

- El último paciente con TMV que falleció lo hizo en el contexto shock séptico y FMO en relación con la resección de un pseudoaneurisma micótico del injerto. En este caso no se realizó necropsia ni explante, pero se analizó la resección del pseudoaneurisma arterial (Figura 39).

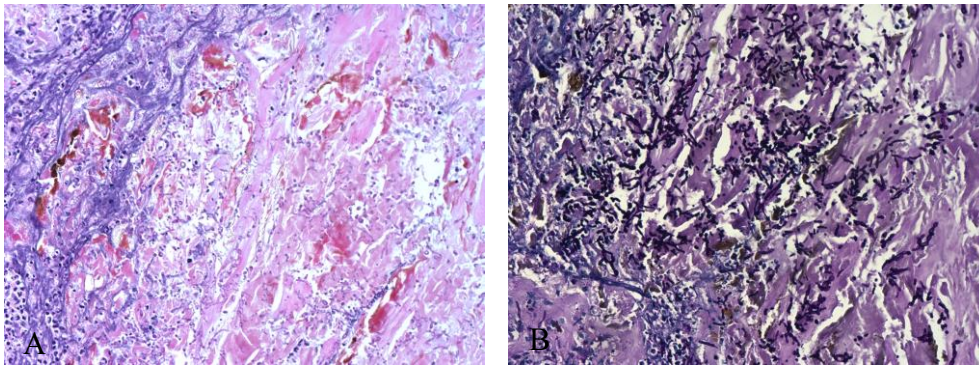


Figura 39. Pseudoaneurisma micótico: Presencia de hifas y esporas micóticas en la pared arterial, junto con necrosis e inflamación aguda (A: HE y B: PAS).

Tabla 17. Resumen de los injertos perdidos.

Injerto	Tipo TI	Indicación	Seguimiento	Estudio	Diagnóstico
1	TIA	RA	157	Explante	RA-3
2	TIA	RA	144	Explante	SLPT-monomorfo
3	TIA	Sd. Gardner	77	Explante	RA-3 y HP
4	TIA	Sd. Gardner	503	Explante	RA-3,RC, HP
5	TMV	Budd-Chiari	31	Autopsia	FMO
6	TMV	Esquistosom.	80	Autopsia	FMO
7	STIA	Isquemia	1	Explante	HNS
8	TMV	Isquemia	51	Biopsia	Pseudoaneurisma

FMO: Fracaso multiorgánico, HNS: Hallazgos no relevantes, HP: Hiperplasia plasmocítica, RA: Rechazo agudo, RC: Rechazo crónico, SLPT-mono: Síndrome linfoproliferativo monomorfo, TIA: Trasplante intestino aislado, TMV: Trasplante multivisceral

SITUACIÓN DE LOS PACIENTES E INJERTOS AL FINAL DEL ESTUDIO:

De los 15 pacientes de la serie, en 5 con TIA (33%) se restableció el tránsito por completo, en una media de 513 días post-trasplante (rango: 315-796) y con control a través de enterocolonoscopia periódica. Cuatro pacientes (27%) continuaban en el momento de cerrar la serie con ileostomía de descarga pero libres de nutrición parenteral. (Gráfico 20).

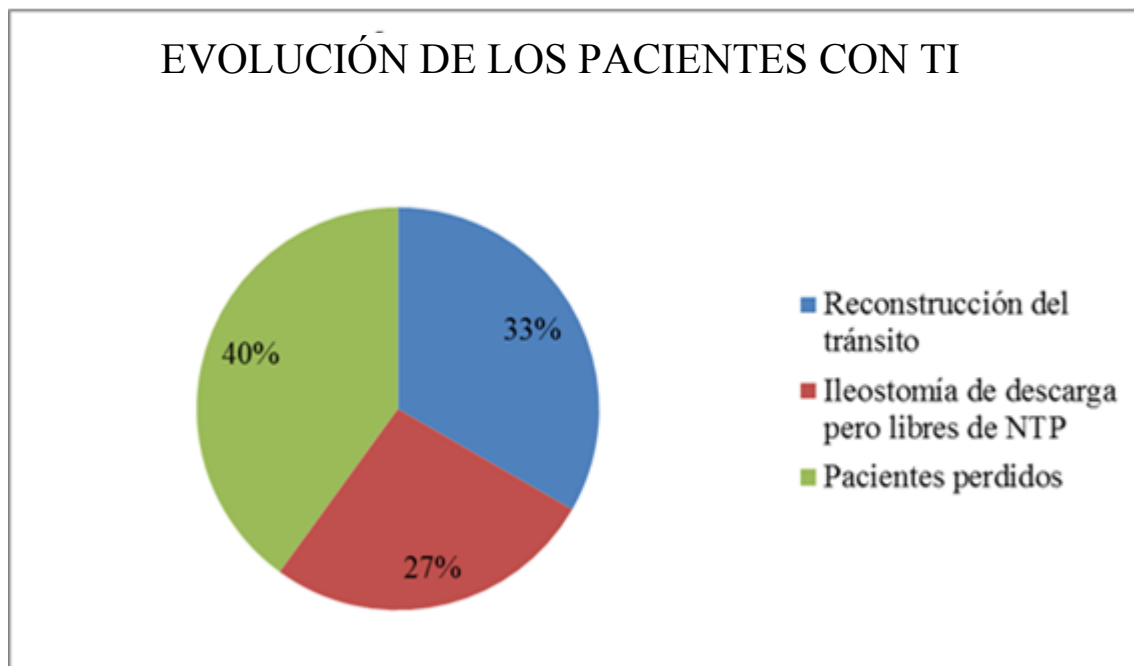
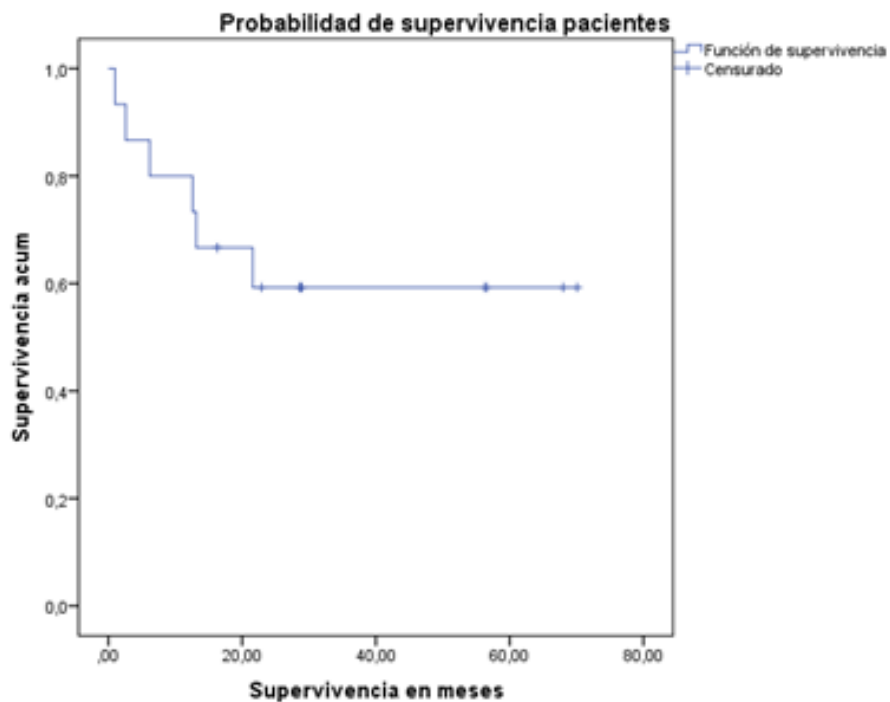


Gráfico 20. Evolución de los 15 pacientes de la serie.

La supervivencia del paciente se registró en meses post-trasplante, contando desde el momento del trasplante hasta el cierre de la serie, finalizando el seguimiento en caso de exitus del paciente. La supervivencia del injerto también se reflejó en meses post-trasplante, contando desde el momento del trasplante hasta la última revisión, el momento en que el injerto dejó de funcionar en los casos de pérdida del mismo o hasta el fallecimiento del enfermo. De los 15 enfermos trasplantados, fallecieron 6 en total (3 TI y 3 TMV), lo cual supone una mortalidad cruda del 40% y una supervivencia actuarial al año, 3 y 5 años del 66,7%, 59,3% y 59,3%, respectivamente (Gráfico 21). Tras un seguimiento de los injertos de 77,2 meses (media de 24.8 ± 22.4 , intervalo de 1-67.3 meses), se obtuvo una supervivencia cruda de los injertos del 52,9% (9 de 17) y una supervivencia actuarial al año, 3 y 5 años del 62,5%, 55,6% y 55,6% respectivamente (Gráfico 22).

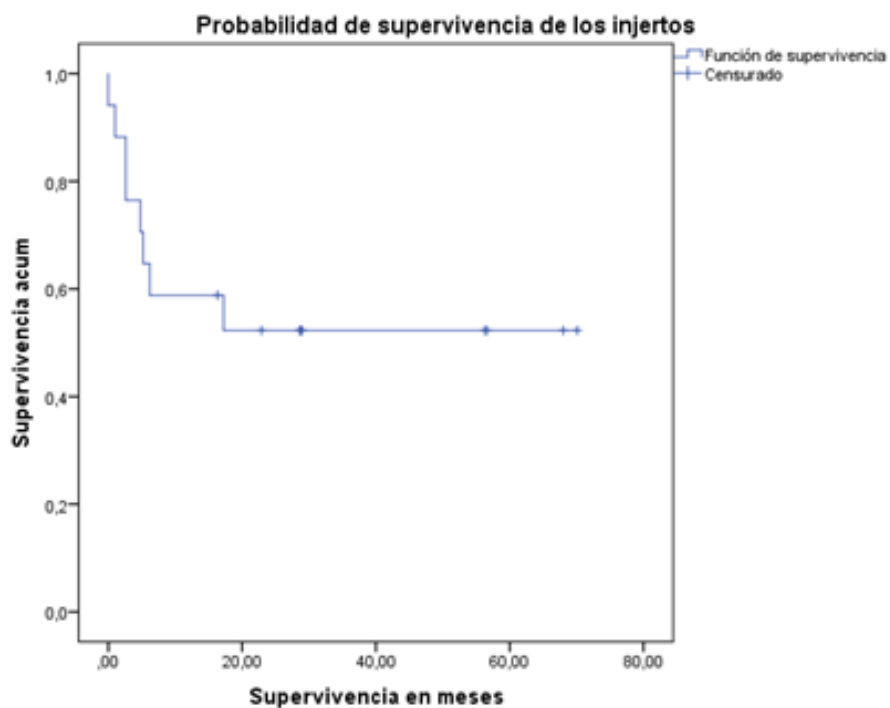


1° año 66,7%

3° año 59,3%

5° año 59,3%

Gráfico 21. Probabilidad de supervivencia de los pacientes



1° año 61,5%

3° año 55,6%

5° año 55,6%

Gráfico 22. Probabilidad de supervivencia de los injertos.

VI. DISCUSIÓN

En el presente estudio se han analizado los resultados de la mayor serie de pacientes adultos con TI que existe actualmente en España. El estudio en sí ha consistido en la recapitulación de los hallazgos morfológicos observados en 17 injertos de TI realizados en quince pacientes en la modalidad de TIA (13 injertos) y TMV (4 injertos) durante su evolución y las complicaciones desarrolladas a lo largo del tiempo (rechazo, infecciones, SLPT...). También se han analizado las piezas de resección de órganos nativos, así como los injertos fracasados mediante el estudio del injerto explantado o la realización de la autopsia. Los objetivos que se han perseguido han sido conocer la prevalencia y las características histológicas de las complicaciones descritas en la evolución de los pacientes a través de una adecuada correlación clínico-patológica y comparar nuestros resultados con los comunicados por los principales grupos de TI mundiales. Un segundo objetivo ha consistido en describir y desarrollar una metodología de estudio de todos aquellos hallazgos observados y escasamente desarrollados o estudiados en las publicaciones sobre esta materia. Para la clasificación de las lesiones se han establecido categorías diagnósticas que serán discutidas y desarrolladas a continuación.

Actualmente el trasplante intestinal es una opción terapéutica viable para aquellos pacientes que padecen fracaso intestinal (FI) y precisan cubrir una porción o la totalidad de los requerimientos calóricos a través de la nutrición parenteral (NP) (25-30). Las causas del FI son diferentes entre la población adulta y la pediátrica, representando el intestino corto de variada etiología la indicación más frecuente para el trasplante en ambos grupos (13-14,43-44). En el caso de los adultos la patología isquémica es la causa más frecuente, seguida de la enfermedad de Crohn y el traumatismo (13-14,26). En nuestra serie de 15 pacientes la patología isquémica de variada naturaleza constituyó también la indicación más frecuente, encontrándose en 9 de ellos y representando por tanto el 41% de los trasplantes. El síndrome de Gardner con fibromatosis mesentérica fue la segunda indicación apareciendo en 4 pacientes lo que supuso un 23%, mientras que en otras series esta etiología representa apenas el 3% de las indicaciones (43). La enfermedad de Crohn sin embargo sólo fue causa de FI en un paciente. En adultos la variante TIA es más frecuente que en la población pediátrica, realizándose siempre que exista daño hepático reversible (13). El TMV es la variante de trasplante que incluye estómago-duodeno-páncreas-yeyuno-íleon e hígado en bloque. Se realiza cuando existe más de un órgano abdominal afectado como sucede en traumatismos abdominales extensos, grandes resecciones quirúrgicas, trombosis vasculares mesentéricas

extensas, alteraciones de la motilidad o tumores mesentéricos irreseccables (50-51,163). De los cuatro casos de TMV realizados se documentó hepatopatía crónica y daño hepático irreversible secundario a síndrome de Budd-Chari con trombosis portal y de las venas mesentéricas, secundario a policitemia vera en un paciente. Hepatopatía fibrosa con cambios compatibles con hipertensión portal (HTP) no cirrótica y trombosis portal suboclusiva secundaria a esquistosomiasis en otro. Esteatohepatitis y fibrosis hepática leve con infarto esplénico y trombosis de las ramas de la arteria mesentérica, en el tercer caso y síndrome de Gardner con tumor desmoide que infiltraba la aorta abdominal, la arteria esplénica, la pared abdominal y la raíz del mesenterio en el cuarto. Hasta la fecha de cierre de la serie no se ha realizado ningún trasplante hepato-intestinal.

La mucosa intestinal es sensible a la isquemia, pero no sólo la interrupción del flujo sanguíneo produce lesión. La reperfusión tras un periodo de isquemia fría o caliente también la genera (68). Los cambios descritos en la mucosa han seguido un espectro de lesiones cuyos extremos son desde mucosa de características habituales a isquemia transmural. El edema y la congestión de la lámina propia, la denudación del epitelio, el acortamiento en la longitud de las vellosidades y la marginación neutrofílica en las venas son los principales hallazgos histológicos encontrados (68-69). La severidad de estos cambios se relaciona con el tiempo de isquemia fría del injerto (71). En cuanto a la graduación de las lesiones, no hay consenso establecido, teniendo cada grupo sus propios sistemas. Quaedackers et al. concluyen que el sistema ideal es aquel que combina los hallazgos morfológicos/histológicos con la gravedad del daño, de leve a severo (72). En nuestro grupo dos patólogos valoraron los hallazgos histológicos y su correlación con el tiempo de isquemia fría. Existió correlación positiva entre ellos dos en la evaluación de los hallazgos morfológicos y en el grado alcanzado ($p < 0,01$). También se ha observado correlación positiva significativa ($\rho = 0,681$, $p < 0,05$) entre el grado de preservación y el tiempo de isquemia fría. La atrofia vellositaria, la congestión y los neutrófilos en la lámina propia fueron los hallazgos más observados, correspondiendo con los descritos por otros autores (68-69,71). Este sistema desarrollado presenta reproducibilidad y puede suponer una herramienta útil para la graduación de los daños por isquemia-reperfusión. Recientes estudios en modelos experimentales animales pretenden encontrar fármacos que reduzcan estos daños y favorezcan una mejor evolución de los injertos. En dos de los más recientes se ha empleado remifentanilo (opioide) y una clase nueva de hidrazona (guanilhidrazona CPSI-2364) que bloquea a los macrófagos de la lámina propia intestinal y

reduce la inflamación. En ambos se postula que el empleo de estas sustancias, previo al trasplante, podría tener beneficios sobre la evolución de estos pacientes (74-75).

El TI es peculiar debido a los complejos acontecimientos inmunológicos que siguen al implante de un órgano linfoide. Inmediatamente después del trasplante comienza una infiltración de linfocitos del receptor en el injerto para repoblar su tejido linfoide durante semanas o meses y en ese tejido (lámina propia de la mucosa y placas de Peyer) suceden estímulos inmunes intensos que se manifiestan morfológicamente por infiltrados inflamatorios, daño epitelial y apoptosis en las criptas (105,118, 145-146). La distribución anatómica de ese tejido linfoide hace que estos fenómenos sean parcheados, más frecuentes en el íleon, y su diagnóstico exige múltiples tomas de biopsias a distintos niveles (118). El rechazo en el TI ocurre en torno a un 69% según las series, siendo la principal causa de fracaso del injerto (118). En los estudios realizados existen datos discrepantes en cuanto a su aparición condicionada por la presencia de una prueba cruzada positiva o por la presencia de un panel de anticuerpos reactivos pre-trasplante. Según un último estudio publicado se observa que pese a la existencia de una prueba cruzada positiva no hay una peor evolución de los injertos debido al empleo de la terapia inmunosupresora de inducción con antiglobulina y rituximab (124). Como sucede en otros órganos la clasificación del RA utiliza términos derivados de la inmunología (rechazo hiperagudo, RA acelerado, RAV, etc...) y que en ocasiones no reflejan exactamente los hallazgos histológicos observados (117).

El rechazo hiperagudo y el rechazo agudo acelerado son términos que describen un acontecimiento en el que el injerto es rechazado en minutos/horas (hiperagudo) o pocos días (acelerado). Estos fenómenos se dan en pacientes sensibilizados a los antígenos del receptor y con una respuesta humoral intensa y no son frecuentes debido a los estudios de histocompatibilidad y *crossmatch* que se realizan entre donante y receptor previos al trasplante. El grupo de P. Ruiz ha comunicado un caso en el que no hubo compatibilidad de HLA entre donante y receptor con anticuerpos pretrasplante donante-específico preformados. Inmediatamente tras la reperusión del injerto la anastomosis se volvió oscura y congestiva con arteritis y daño isquémico mediado por el depósito de inmunocomplejos en el estudio histológico. Tras plasmaféresis e inmunosupresión intensa se logró controlar el rechazo con recuperación y estabilización del paciente y del injerto (126). En nuestra serie no se ha documentado ningún caso similar.

El rechazo agudo vascular (RAV) es una entidad escasamente descrita en TI, que generalmente se produce en un periodo temprano post-trasplante por la presencia de anticuerpos preformados en el donante frente a antígenos del receptor en un régimen inadecuado de inmunosupresión. La formación *de novo* de estos anticuerpos o la presencia de autoanticuerpos en el receptor también pueden ser mecanismos implicados. Los cambios histológicos descritos consisten en una vasculitis de vasos de mediano tamaño que puede evolucionar a una necrosis de la pared vascular con un daño isquémico importante del injerto (123,127). En la microvasculatura de la mucosa se ha descrito congestión y extravasación de eritrocitos. El nivel de daño de los vasos de mayor calibre o de la microvasculatura puede graduarse de 0 a 3 según la gravedad de los cambios inflamatorios, la proporción de vasos afectados y la presencia de necrosis (117). Con técnicas de inmunofluorescencia se ha observado depósito de inmunoglobulinas en los vasos. Sin embargo parece no haber una clara correlación entre el depósito de C4d y el desarrollo de un rechazo humoral (127-128). El C4d es un producto de degradación de la vía clásica del sistema del complemento que en lugar de desaparecer como otros componentes del complemento, establece enlaces covalentes con componentes de las células endoteliales y con el colágeno de las membranas basales (MB), que lo mantienen en el tejido, y es por ello posible su detección mediante una técnica de inmunofluorescencia directa o de IHQ convencional (133). La valoración del depósito de C4d se ha incluido en los criterios morfológicos que definen el RH en el trasplante renal y en el cardiaco, junto con la presencia de anticuerpos donante-específico y los hallazgos histológicos característicos (129-132). En el caso del TI no está tan caracterizado siendo poco precisos los datos publicados. Troxell M et al. evaluó la tinción para C4d en los capilares de 29 injertos intestinales (14 sin RAC y 15 con RAC) y en la mucosa normal de especímenes nativos, no encontrando una relación clara entre la inmunotinción para C4d y el diagnóstico de rechazo (136). En otro estudio reciente se intentó correlacionar la inmunotinción de C4d con los niveles de anticuerpos donante-específico, no estableciéndose una relación directa de los niveles de anticuerpos y el desarrollo de RAH (138). Además, el depósito de C4d puede observarse también en ausencia de signos histológicos o clínicos de rechazo, teniendo su presencia en ausencia de lesión un significado incierto (127-128). En nuestra serie también se estudiaron los depósitos de C4d y su posible relación con la presencia de rechazo humoral. Para ello se estudió el depósito del anticuerpo tanto en biopsias control de mucosa intestinal como en biopsias de injerto con y sin ataque inmune. En las biopsias control se observó depósito focal y débil de C4d en la pared de los capilares submucosos. En el caso de los

injertos se observaron depósitos intensos y difusos de C4d en las biopsias de 2 pacientes, focales y débiles en 4 y ausencia de depósito en 6. Se comparó el tipo de depósito de los injertos con el estudio de *crossmatch* previo de los pacientes para la detección de anticuerpos preformados, el grado de lesión de preservación y el tiempo de isquemia fría del injerto. Hubo dos casos con *crossmatch* positivo que tuvieron un grado moderado de lesión de preservación y en uno de ellos una tinción difusa para C4d con isquemia fría de 360 minutos, el otro no tuvo tinción y el tiempo de isquemia fría fue de 315 minutos. Otro caso de *crossmatch* negativo mostró depósitos de C4d positivos intensos, con un grado severo de lesión por preservación y un tiempo de isquemia de 475 minutos. Estos datos se enfrentaron con el estudio evolutivo de los injertos en sus biopsias posteriores y la posible aparición posterior de rechazo, y no se observó ningún rechazo humoral, ni agudo. Estos resultados concuerdan por tanto con los de las otras investigaciones, no llegándose a observar una clara asociación entre la inmunotinción de C4d, el resultado del *crossmatch*, el tiempo de isquemia fría y el grado de lesión por preservación, ni con un valor predictivo del desarrollo de RA posterior.

Los tres hallazgos histológicos fundamentales que caracterizan al RAC y que fueron determinados por Lee et al. son: el infiltrado inflamatorio mononuclear, el daño del epitelio criptico (criptitis) y la presencia de apoptosis en las criptas (94, 139). La presencia de estos hallazgos precisa de una adecuada correlación clínica y un muestreo del injerto completo. En estos estudios se estableció también el sistema ABC (*apoptosis body count*) para la cuantificación de las apoptosis en las criptas y que consiste en determinar el número de apoptosis observadas en diez criptas consecutivas. Hasta dos apoptosis por 10 criptas pueden observarse en ausencia de ataque inmune, ya que la apoptosis celular es un proceso fisiológico que regula el epitelio intestinal. En el caso del rechazo está aumentado, siendo este el punto de corte a partir del cual se va a establecer la sospecha de RA. La apoptosis del epitelio gastrointestinal va a observarse en otras situaciones tales como EICH, infección por CMV, toxicidad farmacológica, enfermedad inflamatoria intestinal idiopática (EII), estados de inmunodeficiencia y patologías autoinmunes. En concreto el empleo de micofenolato mofetil como agente inmunosupresor ha sido relacionado con la aparición de colitis con distorsión de la arquitectura, apoptosis, criptitis e infiltrados inflamatorios en la mucosa colónica, hallazgos que pueden simular un ataque inmune (121-122). Aparte de las observadas sobre cortes histológicos teñidos con HE, algunos estudios han intentado determinar marcadores más fiables y específicos de apoptosis. En uno de ellos se ha realizado IHQ empleando un

anticuerpo dirigido contra la caspasa-3, proteasa implicada en el fenómeno apoptosis celular, no obteniendo resultados satisfactorios (149).

En el RAC no sólo es necesario hacer su diagnóstico, también hay graduarlo, puesto que el tratamiento inmunosupresor difiere entre el grado leve y el moderado-grave (16). El sistema más empleado es el que está basado en los datos de Wun. et al y Ruiz el al. En este sistema se contabiliza el ABC de 10 criptas consecutivas, el grado de inflamación mixta (de predominio mononuclear pero con presencia de linfocitos activados, eosinófilos y neutrófilos) y el daño del epitelio de superficie según esté intacto o ulcerado/erosionado). Combinando estos hallazgos se divide el ataque inmune en cinco grados: normal, indeterminado para rechazo, RA leve, RA moderado y RA grave (130-139). Debido a las deficiencias de precisión que existen en la literatura acerca de cada hallazgo y su posible relación con toxicidades farmacológicas, en este trabajo se decidió completar las clasificaciones histológicas manejadas hasta el momento. Para ello se tuvo en cuenta de forma cualitativa las lesiones de apoptosis y pérdida de criptas y se consideró RA cuando existía un infiltrado inflamatorio de linfocitos y polimorfonucleares (generalmente incluyendo un componente de eosinófilos), lesión del epitelio críptico en forma de cariorrexis y apoptosis y la pérdida de criptas. Para graduarlo se valoró y puntuó los hallazgos según las siguientes escalas:

1. La pérdida activa de criptas:

-Destrucción focal: 1 punto

-Destrucción extensa (< 10 criptas contiguas): 2 puntos

-Destrucción total (>10 criptas contiguas destruidas): 6 puntos

2. Las apoptosis: (definidas como vacuolas con polvo nuclear o restos cariorrecticos)

-2 en 10-12 criptas del fragmento más lesionado: 1 punto

-De 2 en 10-12 criptas del fragmento más lesionado: 2 puntos

3. Las cariorrexis: (definidas como polvo nuclear intraepitelial sin vacuola)

->3 criptas seguidas con cariorrexis: 1 punto

-Cariorexis presente en más del 50% de las criptas: 2 puntos

En función de la puntuación total obtenida (*score*) el RA se ha clasificado como:

- Indeterminado para rechazo (IRA): Sumatorio de 1. Destrucción focal de una cripta o 1 apoptosis en 10-12 criptas seguidas o >3 criptas seguidas con cariorrexis, siempre en el fragmento más lesionado de los biopsiados.
- RA leve: Sumatorio de 2. Menos de 5 criptas destruidas o 2 apoptosis en 10-12 criptas seguidas ó cariorrexis en más del 50 % de 10-12 criptas seguidas.
- RA moderado: Sumatorio de 3-4. Destrucción de criptas y cariorrexis o apoptosis). El infiltrado inflamatorio está ampliamente disperso por la lámina propia. Puede verse arteritis intimal leve o moderada. El epitelio permanece intacto en cuanto a continuidad, sin ulceración, aunque pueden verse erosiones focales
- RA severo: Sumatorio superior a 4. La destrucción de más de 5 criptas seguidas alcanza esta puntuación y también una suma destrucción de más de 2 criptas con notable presencia de cariorrexis y/o apoptosis. El infiltrado linfocitario se extiende profundamente en la pared y llega a afectar los plexos nerviosos y hay ulceración. El epitelio adyacente a las úlceras es el que muestra abundantes apoptosis. Con la destrucción de la superficie mucosa el contenido intestinal promueve un abundante infiltrado de neutrófilos que cubre las úlceras con pseudomembranas. Puede llegar a verse descamación de mucosa. Se observa arteritis intimal y transmural.

En este trabajo se definió “episodio de RA”: a los días entre el primer diagnóstico y el último de IRA/RA seguido de al menos 10 días sin ataque inmune. Cada episodio se nombró con el grado más alto.

Empleando este sistema el número de episodios de RA que se diagnosticaron fue de 12 episodios en 9 injertos, lo que supone una afectación del 53 % de los injertos, que en algunas series se estima en torno a un 67% (13) u 87% (170). De los episodios de RA el 50% correspondieron a un grado 3, el 25% a un grado 2 y otro 25% a un grado 1. Se observó irregularidad en el momento de aparición de los eventos de rechazo, habiendo cuatro que lo hicieron en los 3 primeros meses, 3 a los seis meses y 5 pasados este periodo y siendo más frecuentes los eventos de aparición tardía en el primer año en torno a los seis meses post-trasplante. El ataque inmune se manifestó inicialmente como leve en el mayor número de casos y su duración tuvo una media de 26 días, aunque los de mayor duración fueron los

grados 3, observándose una correlación positiva significativa ($\rho= 0.661$, $p<0.05$) entre la duración del episodio y el grado de rechazo alcanzado. La evolución también fue errática, sobre todo en los rechazos de mayor grado y en concreto en el caso asociado a desarrollo de SLPT. Esta asociación ha sido descrita por otros autores determinando un peor pronóstico puesto que el empleo de altas dosis de inmunosupresión para tratar el rechazo puede condicionar la aparición de SLPT (160). Tres pacientes tuvieron recidiva del ataque inmune. La recidiva se dió en todos los grados y con el mismo grado que en el primer episodio. No se observó ninguna asociación estadísticamente significativa entre el tipo de trasplante, la duración del episodio, el grado alcanzado y la evolución. En cuanto a la evolución de los injertos con rechazo de los episodios grado 3, en tres se perdió el injerto lo que supuso una tasa del 18,75% del total de los injertos. Dos episodios de RA-3 se resolvieron con tratamiento médico consistente en un incremento de la inmunosupresión con fármacos y dosis adicionales (se administró OKT3 o se repitió la dosis de alemtuzumab). Tanto los de grado 2, como los de grado 1 remitieron con el tratamiento inmunosupresor indicado (el mismo que en el RA-3 para el RA-2 y corticoides en el RA-1). De los nueve injertos que presentaron RAC dos eran TMV y siete TIA, lo que supone una mayor tasa de rechazo en los trasplantes de intestino aislado (43,75%) frente a los multiviscerales, tal y como demuestran otros autores en sus estudios (13). Takahashi et al. también observó en su estudio, que dentro de los injertos de TMV, el injerto de intestino delgado es el más susceptible de presentar RAC (148). En conclusión en este estudio se observó que: El RAC es la causa más importante de morbilidad en el trasplante intestinal en nuestro Programa; se desarrolló en los primeros 150 días post-trasplante; la duración de los episodios de RA aumentó con su intensidad; cualquier grado de RA fué reversible pero se constató que los intensos pueden llevar a la pérdida del injerto; y por último que la mayoría de los episodios de IRA se controlan y revierten.

Nuevas líneas de investigación pretenden encontrar nuevos hallazgos claves para el diagnóstico de RA. Así, la apoptosis de linfocitos y su fagocitosis parecen ser hallazgos sospechosos de RA junto con la apoptosis de las células epiteliales de las criptas (150). También parece que la disrupción de la barrera de células plasmáticas de la mucosa intestinal durante el rechazo puede ser un proceso implicado en este complejo fenómeno inmunológico (151). Siguiendo esta línea de pensamiento, nuestro grupo decidió estudiar las características del infiltrado inflamatorio a través de IHQ, observando un aumento de células linfoplasmocitarias en todos los episodios y grados de rechazo, a expensas fundamentalmente

de linfocitos T CD4+. La población linfoide T CD8+ y la población linfoide B, no parecían seguir un patrón de incremento o depleción definido.

También se han evaluado las características histológicas de la mucosa reparativa encontradas en las 54 biopsias endoscópicas realizadas durante el curso evolutivo de 16 injertos intestinales, describiéndose sus características y su asociación con ataque inmune (rechazo). Los hallazgos más frecuentemente observados fueron la pérdida de glándulas, la distorsión de la arquitectura y la presencia de mitosis. Este cambio reparativo apareció como hallazgo puntual en 3 injertos, y como prolongado en 5, de los cuales en 3 se asoció RA. Entre los 8 casos en los que no se evidenció mucosa reparativa en ninguna biopsia de seguimiento, existieron 4 injertos que presentaron episodios de RA (dos de grado 1, uno grado 2 y otro grado 3). En conclusión, la mucosa reparativa puede ser un hallazgo prolongado durante semanas en la mucosa del injerto intestinal. En una mayoría de los casos de nuestra serie se asoció a ataque inmune pudiendo albergar en su seno las características de éste (apoptosis, inflamación) y su presencia no siempre fue seguida de desaparición del RA. También hubo un caso prolongado sin asociación a ataque inmune que mostró microtrombos capilares persistentes, atribuibles a isquemia crónica de la mucosa. Por tanto la mucosa reparativa posiblemente sea indicativa de reepitelización de erosiones o desprendimientos epiteliales secundarios a rechazos intensos o a isquemia.

El rechazo crónico es la principal causa de disfunción y pérdida del injerto a largo plazo, siendo la diarrea persistente la manifestación clínica más frecuente y la vasculopatía del injerto el hallazgo histológico característico (153). El diagnóstico de RC precisa del estudio de las arterias mesentéricas y vasos submucosos, muestras que no suelen obtenerse a través de la biopsia endoscópica, siendo los cambios que pueden observarse en la mucosa inespecíficos (128,153). En nuestra serie sólo ha sido identificado un caso con signos de RC en el contexto de un fracaso, en el explante de un paciente por RA-3, e HP con imágenes histológicas de RC focal. Los hallazgos encontrados de RC consistieron en fibrosis de la submucosa y placas ateromatosas en la íntima de los vasos mesentéricos.

Las infecciones y las neoplasias malignas son las dos complicaciones mayores asociadas a los tratamientos inmunosupresores prolongados, empleados en el mantenimiento de los injertos en el TOS. En el 31% de nuestros pacientes se demostró histológicamente infección por citomegalovirus siendo el diagnóstico más eficaz esta histología ya que la

inmunohistoquímica confirmó 2 de 3 casos. En dos injertos se evidenció infección por adenovirus. Al menos la mitad de estas infecciones siguieron a previos diagnósticos de RA y consiguiente inmunosupresión adicional y todas ellas se observaron en los primeros 6 meses post-trasplante. La reactivación de infecciones latentes en el órgano trasplantado o en el receptor y/o la exposición a patógenos del medio (nosocomial o en la comunidad) son las dos vías por las que con mayor frecuencia se originan estas complicaciones. Guaraldi et al. (101) en su estudio realizado en 19 pacientes con TI observaron que todos ellos desarrollaban al menos un episodio infeccioso mostrando el 94% una etiología bacteriana, el 67% vírica y el 28% fúngica. Loinaz et al. (99) revisaron 124 casos de trasplante, encontrando la infección bacteriana como causa directa de muerte en un 18%. En nuestra serie en tres pacientes (20%) fallecidos con TMV se estableció como causa directa de muerte el FMO secundario a shock séptico con origen en una infección abdominal secundaria a *Pseudomona aeruginosa*, en una infección respiratoria producida por *Acinetobacter* y en un pseudoaneurisma micótico arterial en otro. Ante una situación clínica de un paciente con TI que presenta disfunción del injerto, fiebre y una biopsia anormal, los diagnósticos diferenciales a plantear son el RA frente a una infección, sobre todo las virales (101). El tratamiento es completamente opuesto, siendo necesario realizar un diagnóstico histológico lo más adecuado posible. También hay autores que han planteado si la enteritis infecciosa predispone a padecer RA (101). El CMV es una de las infecciones virales más frecuentes en TOS, siendo provocada generalmente por la reactivación de una infección latente debido al régimen de inmunosupresión al que deben ser sometidos estos pacientes (106). Su incidencia se ha visto reducida gracias al uso de la profilaxis antiviral (105), pero la enteritis por CMV puede simular clínicamente un RA con síntomas como diarrea y dolor debiendo ser diferenciada debido al manejo terapéutico opuesto que tienen. La infección por CMV se define con la presencia de antígenos virales o ADN en sangre o tejido. Histológicamente las partículas de CMV se pueden demostrar por IHQ o HIS. Los hallazgos histológicos que hacen sospechar una infección por CMV son erosión mucosa o ulceración, con inflamación crónica activa y la presencia de inclusiones intranucleares anfófilas, rodeadas por un halo claro y una membrana nuclear delgada y con inclusiones eosinofílicas, pequeñas en el citoplasma (105). En nuestra serie la serología para CMV donante/receptor (R/D), definida por la presencia de IgG+ en suero, fue: R+/D+ = 10; R-/D+ = 2; R+/D- = 3; R-/D- = 1. En el caso de D+/R- y R+ se realizó profilaxis con ganciclovir y valanciclovir; y en el D-/R- transfusión con filtro leucocitario. En las biopsias de injerto intestinal se sospechó cuando se observó ulceración e inflamación, apareciendo como

inclusión sospechosa sólo en las biopsias de 4 pacientes (26%) y siendo la IHQ positiva para los antígenos virales, con tinción nuclear en 2. La serología receptor/donante en los estos casos fue R+/D- en uno y R-/D+ respectivamente. El adenovirus es un patógeno común, sobretodo en la población pediátrica causante de infecciones respiratorias, gastrointestinales y oculares. La prevalencia de enteritis por adenovirus en pacientes con TI se estima en torno a un 26 % (101,110). La enfermedad puede desarrollarse por la reactivación de una infección latente o por un contagio posterior, dándose dentro de los primeros seis meses (109). La importancia del diagnóstico de la enteritis por adenovirus radica también en su capacidad de simular un cuadro de rechazo, produciendo apoptosis de las células de las criptas junto con inflamación de la lámina propia (109). El diagnóstico se realiza con la presencia de inclusiones intranucleares en los enterocitos de superficie y su confirmación mediante IHQ, PCR o ME (110). En nuestra serie se observaron inclusiones enterocitarias sospechosas en dos pacientes pudiéndose confirmar en uno de ellos la presencia de partículas virales intranucleares mediante estudio ultraestructural. Las infecciones fúngicas aparecen después de los seis meses post-trasplante, con una incidencia entorno a un 25% (115). De ellas la mayoría (80%) corresponden a candidiasis. La infección por *Aspergillus* representa sólo la minoría de casos (3.6%). En nuestra serie sólo se ha documentado un caso de aspergillosis invasiva en el contexto de un estudio post-mortem por FMO secundario a una infección respiratoria. En él se observaron infartos pulmonares bilaterales con aspergillosis pulmonar invasiva.

Los síndromes linfoproliferativos post-trasplante son un conjunto de proliferaciones linfocíticas y plasmacíticas que ocurren en el curso post-trasplante y que frecuentemente, pero no siempre, se asocian al VEB. En el caso del TI su incidencia ha disminuido del 15% en adultos y 40 % en niños al 5.1% y 13.2% respectivamente según los datos del Registro Internacional de TI (158-159). Otros autores reportan una incidencia del 12%, con un momento de aparición que puede ser temprano, antes de los 4 meses post-trasplante, o tardío, después de los dos años (160). Entre las causas que pueden explicar esta disminución de la incidencia están el empleo del tratamiento profiláctico previo al trasplante y la monitorización de la viremia (155). Los factores de riesgo asociados al desarrollo de un SLPT en un trasplante son: primoinfección de VEB en un receptor seronegativo, tipo y duración de la inmunosupresión, tipo de injerto y edad del paciente. La seropositividad para VEB no es un factor protector y se recomienda la monitorización de la serología tanto en pacientes

seronegativos y seropositivos (156-157). Para su clasificación se emplea la desarrollada por la OMS que los divide en cuatro categorías (158): Lesiones tempranas (la hiperplasia plasmocítica (HP) y la infección mononucleosis-like), el SLPT polimorfo, el SLPT monomorfo y el SLPT Linfoma Hodgkin (LH) y LH-like). La infección por VEB puede asociarse hasta en un 80% de los SLPT en TI. Su presencia puede demostrarse por IHQ, PCR o HIS. En nuestra serie se diagnosticaron 7 SLPT en 6 pacientes, lo que supone una incidencia del 40 % de los pacientes y 35,3% de los injertos, en torno a los once meses post-trasplante. Todos los receptores eran seropositivos para VEB, excepto uno y el 71,4% de los casos de SLPT mostraron positividad para VEB en los estudios de HIS. Los hallazgos que apoyan que un infiltrado linfoide puede ser tumoral y no reactivo son la formación de masas y nódulos expansivos, la presencia de células transformadas, la atipia linfocitaria, el predominio del infiltrado de células plasmáticas o células B, necrosis o presencia de células VEB positivas. De los SLPT diagnosticados 5 correspondieron a HP. Los otros dos casos correspondieron a 2 SLPT monomorfos de extirpe B en mucosa. En un mismo paciente se dieron dos eventos de SLPT. El primero se diagnosticó como PTLTD monomorfo, el día 157 post-trasplante, con una duración de 35 días. Durante este mismo evento, el paciente presentó RA, iniciado el día 168 post-trasplante, con una duración de 17 días y un grado máximo de RA-3. El segundo diagnóstico fue de HP, el día 511 post-trasplante, en la pieza de explante del injerto. Junto con este hallazgo, también se observó RA y RC De la evolución de los pacientes tres HP y un SLPT monomorfo se resolvieron con el manejo terapéutico adecuado. El otro SLP monomorfo precisó de explante, ya que la afectación de los ganglios provocó una trombosis mesentérica secundaria y una necrosis isquémica intestinal segmentaria. Los otros dos casos de HP se diagnosticaron en casos de explantes asociados a RA-3. En la relación del rechazo con el SLPT, se postula que es el empleo de la terapia inmunosupresora con OKT3 para el manejo del RA lo que supone un factor de riesgo para el desarrollo de SLPT (156-157,159). Esto podría explicar la alta tasa de SLPT de nuestra serie, puesto que en nuestro programa se realiza profilaxis antiviral pre-trasplante y se monitoriza la carga viral mediante PCR en sangre de forma periódica durante el primer año post-trasplante (16). La mortalidad asociada a SLPT, sin embargo ha disminuido desde el empleo de drogas anti-CD20 (160).

En nuestra serie se observó un único episodio de EICH agudo grado dos en un paciente con TMV, en una biopsia cutánea realizada el día 14 post-trasplante. En la siguiente biopsia realizada el día 17, el ya cuadro había remitido. La EICH es una enfermedad multisistémica

producida cuando los linfocitos T del órgano trasplantado reconocen como extraños a los antígenos del receptor, iniciando una respuesta inmune. Se divide en una forma aguda y otra crónica en función de su momento de aparición. La forma aguda suele aparecer entre las 2 a 6 semanas post-trasplante. En la biopsia cutánea del caso observado encontramos en la epidermis vacuolización de la capa basal con queratinocitos apoptóticos y un infiltrado linfoide. (161-162). Mazariegos et al. estiman una incidencia de EICH demostrado histológicamente del 6,5% en población pediátrica y del 4,7% en adultos (162).

Otros hallazgos microscópicos encontrados, que si bien no tenían un importante papel nocivo en la patología del injerto, sí eran lo suficientemente relevantes como para ser nombrados en el DAP y referidos aquí para su conocimiento por cualquier patólogo implicado en biopsias de TI. Fueron la reacción granulomatosa tipo cuerpo extraño en lámina propia frente a las partículas de kaixalato (resina de intercambio iónico empleada para el manejo de la hiperpotasemia, que aumenta la excreción intestinal de potasio) y la presencia de microtrombos que en un caso. Se mantuvieron de forma prolongada en el tiempo, asociándose a IAI e IRA. También se identificó calcificación de la lámina propia en la biopsia del injerto de un paciente. Las calcificaciones ectópicas se han descrito en otros trasplantes y se han atribuido al empleo de abundantes transfusiones cuyo citrato cálcico puede hacer precipitar calcio preferentemente en zonas lesionadas del injerto pero también en zonas sanas (179-180).

Entre las 27 biopsias no intestinales realizadas, 8 fueron de MO para el estudio de extensión de los SLPT y con el diagnóstico de hipocelularidad en cinco de ellas. La monitorización de los injertos MTV exigió la realización de biopsia hepática. Se realizaron un total de 8 biopsias hepáticas diagnosticándose cambios de preservación en las biopsias de “tiempo 0”, hepatotoxicidad en un caso y, también sólo en un paciente, cambios necroinflamatorios inespecíficos. En tres casos de TMV también se realizó biopsia endoscópica y en una se realizó el diagnóstico de rechazo agudo en muestra de mucosa duodenal el día 48 post-trasplante y en el contexto clínico de un RA-3. Los criterios para diagnosticar rechazo en biopsias endoscópicas altas en pacientes con trasplante multivisceral han sido descritos por García M et al. En su trabajo se gradúa los cambios encontrados en el epitelio de superficie (inflamación, erosión, ulceración y atrofia/hiperplasia), en la lámina propia (infiltrado inflamatorio, edema, congestión, hemorragia) y en el epitelio glandular (Infiltrado inflamatorio, cuerpos apoptóticos, alteración de la arquitectura y cambios celulares) y elabora

una escala que permite graduar el daño y su posible asociación con rechazo. En el grado 0 no hay evidencia de rechazo, el grado 1 corresponde al indeterminado para rechazo, el grado 2 es un rechazo leve, el grado 3 rechazo moderado y el grado 4 rechazo grave (147).

Unos de los papeles que tiene el patólogo dentro del Programa de Trasplante es el de realizar el control de calidad a través de la valoración de los injertos perdidos y de pacientes autopsiados. De los 8 trasplantes fracasados en 5 se pudo examinar los injertos explantados y en dos se pudo realizar estudios necrópsicos. Sólo hubo un caso en que no fue posible hacer ninguna valoración. A través de estos estudios se ha podido establecer que hay dos tipos de causa de fracaso fundamentales, una causa local propia del injerto (rechazo y síndrome linfoproliferativo fundamentalmente) y otra sistémica (sepsis) y que el estudio histopatológico determina y documenta adecuadamente estas causas de pérdida del injerto intestinal.

De los 15 pacientes de la serie en 5 con TIA (33%) se restableció el tránsito por completo, con una media de 513 días post-trasplante (315-796) y con control a través de endoscopia periódica. Cuatro pacientes (27%) continuaban en el momento de cerrar la serie con ileostomía de descarga pero libres de nutrición parenteral. De los 15 enfermos trasplantados, fallecieron 6 en total (3 TI y 3 TMV), lo cual supone una mortalidad cruda del 40%, con una supervivencia actuarial al año, 3 y 5 años del 66,7%, 59,3% y 59,3%, respectivamente. Se perdieron 8 injertos (47%) de 7 pacientes (46,6%), 3 de ellos MTV y el resto TIA. Tras un seguimiento de los injertos de 77,2 meses, se obtuvo una supervivencia cruda de los injertos del 52,9% (9 de 17) y una supervivencia actuarial al año, 3 y 5 años del 62,5%, 55,6% y 55,6% respectivamente. La probabilidad de supervivencia tanto del paciente como del injerto desciende hasta un 60% durante los primeros 15 meses, manteniéndose estable a partir de ese momento. Nuestra serie es pequeña comparada con la que presentan otros grupos, aun así nuestros datos son semejantes, e incluso mejores, con los presentados por otros grupos en relación con el TI, así como con las cifras que presenta el Registro Internacional de Trasplante de Intestino (14).

VII. CONCLUSIONES

1. Aquí y ahora se ha conseguido que el trasplante intestinal sea una terapéutica viable para los pacientes con SIC con una supervivencia del 66,7% al año y del 59,3 % a los 3 años. La patología isquémica, seguida del síndrome de Gardner son las indicaciones más frecuentes en nuestra serie. La supervivencia obtenida por nuestro grupo es equiparable a la de otros grupos con mayor experiencia.
2. La graduación de los cambios de preservación en la mucosa del injerto, aquí diseñada, puede valorarse de forma objetiva por distintos observadores y su intensidad se correlaciona significativamente con el tiempo de isquemia fría del injerto.
3. El rechazo agudo, las infecciones y el SLPT son las complicaciones más frecuentes y las subsidiarias de un necesario diagnóstico histopatológico preciso para el adecuado manejo del paciente. El RA se ha observado en el 53% de los injertos y las infecciones virales oportunistas así como el SLPT en el 40 % de los pacientes respectivamente. Estas complicaciones se han dado con mayor frecuencia dentro del primer año post-trasplante y ocasionalmente de modo simultáneo.
4. Las causas de fracaso de los injertos pueden ser: 1) locales o propias del intestino (rechazo y el SLPT) que suponen una tasa de injertos perdidos del 18,75% y 2) sistémicas de causa infecciosa evolucionadas a estados sépticos con una tasa del 11.7%.
5. La histopatología está implicada necesariamente en la valoración de la idoneidad del injerto para el trasplante, en la evolución de este, en la monitorización de los tratamientos inmunosupresores y en la evaluación de la calidad del Programa (examen de injertos perdidos y autopsias). La histopatología debe realizarse en un escenario clínico y con inexcusable correlación anatomoclínica.
6. Todas las observaciones reflejadas en el presente estudio han sido simultáneas al proceso asistencial y han constituido la base para el manejo de los injertos y pacientes. Muchos de los hallazgos encontrados durante el desarrollo del Programa no se han descrito o la han sido muy someramente por los escasos grupos internacionales, lo que ha supuesto una dificultad en el momento de enfrentarse a cada estudio morfológico de análisis de los tejidos. Con este trabajo se ha desarrollado un entrenamiento y una metodología para los patólogos que debe ampliarse con estudios más concretos y específicos de muchas de las observaciones aquí relata

BIBLIOGRAFÍA

1. Rinaldi, E. The first homoplastic limb transplant according to the legend of Saint Cosmas and saint Damian. *Ital J Orthop Traumatol.* 1987; 13: 393-406.
2. Rothwell A. Alexis Carrel: innovator extraordinaire. *J Perioper Pract.* 2011; 21: 73-76.
3. Moffatt SL, Cartwright VA, Stumpf TH. Centennial review of corneal transplantation. *Clin Experiment Ophthalmol.* 2005; 33: 642-657
4. Schäfer HH. The contribution of Christian Barnard to the history of transplantation medicine. *Dtsch Med Wochenschr.* 2011; 136: 2679-2683.
5. Billingham RE, Brent L, Medawar PB. Actively acquired tolerance of foreign cells. *Nature* 1953; 172: 603-606.
6. Dausset J, Rapaport FT, Colombani, J, et al. A leucocyte group and its relationship to tissue histocompatibility in man. *Transplantation* 1965; 3: 701-705.
7. Doherty PC, Zinkernagel RM. A biological role for the major histocompatibility antigens. *Lancet* 1975; 28: 1406-1409.
8. Laupacis A, Stiller CR, Gardell C et al. Cyclosporin prevents diabetes in BB Wistar rats. *Lancet* 1983; 1: 10-12.
9. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Dirección web: www.msps.es (Acceso en 30 de mayo 2012)
10. Abu-Elmagd KM. Intestinal transplantation for short bowel syndrome and gastrointestinal failure: current consensus, rewarding outcomes, and practical guidelines. *Gastroenterology* 2006; 130: 132-137.
11. Lillehei RC, Idezuki Y, Feemster JA, et al. Transplantation of stomach, intestine, and pancreas: experimental and clinical observations. *Surgery* 1967; 62: 721-741.
12. Lee KK, Stangl MJ, Todo S, et al. Comparison of short-term immunosuppressive therapy with cyclosporine and FK 506 in small-bowel transplantation. *Transplant Proc.* 1990; 22: 2485-2486.
13. Abu-Elmagd K, Reyes J, Bond G, et al. Clinical intestinal transplantation: a decade of experience at a single center. *Ann Surg.* 2001; 234:404-417.

14. Marquez M. Intestinal Transplant Registry Report 2011. Dirección URL: <http://intestinaltransplantassociation.com> (Acceso en 29 de enero de 2013)
15. López Santamaría M, de Vicente E, Gámez M, et al. Intestinal transplantation. First experience in Spain. *Cir Pediatr.* 2001; 14: 25-27.
16. Meneu Díaz JC, Moreno González E, García García JI, et al. First Spanish series of intestinal transplantation in adult recipients. *Rev Esp Enferm Dig.* 2006; 98: 723-739.
17. Langman, J. (1975). *Medical Embryology, Human Development—Normal and Abnormal* (3ª Ed.) Baltimore: Williams and Wilkins.
18. Carlson, BM. (1996) *Patten's fundation of embryology* (6ª Ed.) Nueva York: McGraw-Hill.
19. Montgomery RK, Mulberg AE, Grand RJ. Development of the human gastrointestinal tract: twenty years of progress. *Gastroenterology.* 1999; 116: 702-731.
20. Walters JRF, Howard A, Rumble HEE, et al: Differences in expression of homeobox transcription factors in distal and proximal human intestine. *Gastroenterology* 1997; 113: 472-477.
21. Silberg DG, Swain GP, Suh ER, Traber PG. Cdx1 and cdx2 expression during intestinal development. *Gastroenterology.* 2000; 119: 961-971.
22. O'Keefe SJ, Buchman AL, Fishbein TM, et al. Short bowel syndrome and intestinal failure: Consensus definitions and overview. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 6-10.
23. Fishbein TM. Intestinal transplantation. *N Engl J Med.* 2009; 361: 998–1008.
24. Rodríguez A, Cánovas G. Síndrome de intestino corto en adultos. Tratamiento nutricional. *Endocrinol Nutr* 2004; 51:163-172.
25. ASPEN Board of Directors and the Clinical Guidelines Task Force. Guidelines for the use of parenteral and enteral nutrition in adult and pediatric patients. Short-bowel syndrome. *JPEN* 2002; 26: 70-73.
26. Nightingale JMD. Management of patients with a short bowel. *World J Gastroenterol* 2001; 7: 741-751.

27. American Gastroenterological Association. Short bowel síndrome and intestinal transplantation: medical position statement. *Gastroenterology* 2003; 124: 1105-1110.
28. Althausen TL, Doig RF, Kohn U y cols. Digestion and absorption after massive resection of the small intestine: part 2. *Gastroenterology* 1950; 16: 126-139.
29. Dowling RH, Booth CC. Functional composition after small bowel resection in man. *Lancet* 1966; 2: 146-147.
30. Williamson RCN. Intestinal adaptation. *N Engl J Med.* 1978; 298: 1393-1402.
31. Crenn P, Coudray-Lucas C, Thuillier F. Postabsorptive plasma citrulline concentration is a marker of absorptive enterocyte mass and intestinal failure in humans. *Gastroenterology* 2000; 119: 1496-1505.
32. Crenn P, Messing B, Cynober L. Citrulline as a biomarker of intestinal failure due to enterocyte mass reduction. *Clinical Nutrition* 2008; 27: 328-339.
33. Howard L, Ament M, Fleming CR, et al. Current use and clinical outcome of home parenteral and enteral nutrition therapies in the United States. *Gastroenterology* 1995; 109: 355-365.
34. Pérez de la Cruz AJ, Moreno-Torres Herrera R, Pérez Roca C. Tratamiento nutricional del fallo intestinal y potenciales mecanismos de estimulación. *Nutrición Hospitalaria* 2007; 22: 86-102.
35. Broviac JN y Scribner BH: Prolonged parenteral nutrition in the home. *Surg Gynecol Obstet* 1974; 139:24-28.
36. Wanden Berghe C, Gómez Candela C, Chicharro L, et al. Registro del año 2010 de Nutrición Parenteral Domiciliaria en España: Grupo NADYA-SENPE. *Nutrición Hospitalaria* 2011; 26:1277-1282.
37. Pironi L, Joly F, Forbes A, et al. Long-term follow-up of patients on home parenteral nutrition in Europe: implications for intestinal transplantation. *Gut* 2011; 60: 17-25.
38. Abu-Elmagd KM, Reyes J, Fung JJ, et al. Evolution of clinical intestinal transplantation: improved outcome and cost effectiveness. *Transplant Proc* 1999; 31: 582-584.

39. Abu-Elmagd KM, Kosmach-Park B, Costa G. Long-term survival, nutritional autonomy, and quality of life after intestinal and multivisceral transplantation. *Ann Surg.* 2012; 256: 494-508.
40. Selvaggi G, Gyamfi A, Kato T, et al. Analysis of vascular access in intestinal transplant recipients using the Miami classification from the VIIIth International Small Bowel Transplant Symposium. *Transplantation* 2005; 79: 1639-1643.
41. Chungfat N, Dixler I, Cohran V, et al. Impact of parenteral nutrition-associated liver disease on intestinal transplant waitlist dynamics. *J Am Coll Surg* 2007; 205: 755-761.
42. Goulet O. Are the needs and indications for bowel transplantation changing? En: Symposium IISBT, ed. Brussels: IXth International Small Bowel Transplantation Symposium, 2005
43. Kaufman SS, Atkinson JB, Bianchi A, et al. Indications for pediatric intestinal transplantation: a position paper of the American Society of Transplantation. *Pediatr Transplant* 2001; 5: 80-87.
44. American Gastroenterological Association medical position statement: short bowel syndrome and intestinal transplantation. *Gastroenterology* 2003; 124: 1105-1110.
45. Middleton SJ, Nishida S, Tzakis A, et al. Cambridge-Miami score for intestinal transplantation preoperative risk assessment: initial development and validation. *Transplant Proc.* 2010; 42: 19-21.
46. The U.S. Organ Procurement and Transplantation Network and the Scientific Registry of Transplant Recipients 2009 OPTN / SRTR Annual Report: Transplant Data 1999-2008. URL: <http://optn.transplant.hrsa.gov/ar2009/> (Acceso 24 marzo 2013).
47. Mazariegos GV, Steffick DE, Horslen S, et al. Intestine transplantation in the United States 1999-2008. *Am J Transplant.* 2010; 10: 1020-1034.
48. Carlsen BT, Farmer DG, Busuttil RW, Miller TA, Rudkin GH. Incidence and management of abdominal wall defects after intestinal and multivisceral transplantation. *Plast Reconstr Surg* 2007; 119: 1247-1255.

49. Matsumoto CS, Kaufman SS, Girlanda R, et al. Utilization of donors who have suffered cardiopulmonary arrest and resuscitation in intestinal transplantation. *Transplantation* 2008; 86: 941-946.
50. Todo S, Tzakis A, Abu-Elmagd K, et al. Abdominal multivisceral transplantation. *Transplantation* 1995; 59: 234-40.
51. Starzl TE, Todo S, Tzakis A, et al. The many faces of multivisceral transplantation. *Surg Gynecol Obstet* 1991; 172: 335-344.
52. Gondolesi GE, Rumbo C, Fernández A, et al. Trasplante intestinal. Revisión y descripción de su evolución en Latinoamérica. *Acta Gastroenterol Latinoam* 2009; 39: 63-80.
53. Sudan DL, Iyer KR, Deroover A, et al. A new technique for combined liver/small intestinal transplantation. *Transplantation* 2001; 72: 1846-1848.
54. De Ville de Goyet J, Mitchell A, Mayer AD, et al. En block combined reduced-liver and small bowel transplants: from large donors to small children. *Transplantation* 2000; 69: 555-559.
55. Fishbein T, Florman S, Gondolesi G, Decker R. Noncomposite simultaneous liver and intestinal transplantation. *Transplantation* 2003; 75: 564-575
56. Gruessner RW, Sharp HL. Living-related intestinal transplantation: first report of a standardized surgical technique. *Transplantation* 1997; 64: 1605-1607
57. BOE (2012) Real Decreto 1723/2012, de 28 de diciembre, por el que se regulan las actividades de obtención, utilización clínica y coordinación territorial de los órganos humanos destinados al trasplante y se establecen requisitos de calidad y seguridad. BOE 313 (29 diciembre 2012): 89315-89348.
58. Starzl TE, Hakala TR, Shaw BW Jr, et al. A flexible procedure for multiple cadaveric organ procurement. *Surg Gynecol Obstet*. 1984; 158: 223-230.
59. Gala-López BL, Copo-Jorge JA, Soliva-Dominguez R, et al. Experiencia con la técnica de extracción multiorgánica en bloque para trasplante. *Cir Ciruj* 2005; 73: 195-200.
60. Starzl TE, Miller C, Broznick B, et al. An improved technique for multiple organ harvesting. *Surg Gynecol Obstet*. 1987; 165: 343-348.

61. Nakazato PZ, Concepción W, Bry W, et al. Total abdominal evisceration: an en bloc technique for abdominal organ harvesting. *Surgery* 1992; 111: 37-47.
62. Escalante Cobo JL, del Río Gallegos F. Preservación de órganos. *Medicina intensiva* 2009; 33: 282-292.
63. Belzer FO, Southard JH. Organ preservation. *Annu Rev Med.* 1995; 46:2 35-247.
64. Thaler W, Oberhuber G, Klima G, et al. Preservation of small bowel grafts a comparison with two standard solutions. *Eur Surg Res.* 1993; 25: 181-186.
65. Chiu CJ, McArdle AH, Brown R, et al. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal *Arch Surg* 1970; 101: 478-483.
66. Hitoshi F, Seshadri R, James G. Organ preservation injury in small bowel transplantation. *J Invest Surg.* 1990; 3: 23-32.
67. Park PO, Haglund U, Bulkley GB, et al. The sequence of development of intestinal tissue injury after strangulation ischemia and reperfusion. *Surgery* 1990; 107: 574-580.
68. Park PO, Haglund U. Regeneration of small bowel mucosa after intestinal ischemia. *Critical Care Medicine* 1992; 20: 135-139.
69. Takeyoshi I, Zhang S, Nomoto M. Mucosal damage and recovery of the intestine after prolonged preservation and transplantation in dogs. *Transplantation* 2001; 71: 1-7
70. de Pinho-Apezato ML, Maksoud-Filho JG, Valinetti EA, et al. The role of interleukin-6, endothelins, and apoptotic genes in small bowel transplantation, in a swine model of ischemia and reperfusion injury. *Pediatr Transplant.* 2011; 15: 617-627.
71. Nakamura K, Alexander KS, Demetris AJ. Histologic evaluation of preservation injury in clinical small bowel transplantation. *Transplant Proc.* 1994; 26: 1416.
72. Quaedackers JS, Beuk RJ, Bennet L, et al. An evaluation of methods for grading histologic injury following ischemia/reperfusion of the small bowel. *Transplant Proc.* 2000; 32: 1307-1310.
73. Balaz P, Kudla M, Lodererova A et al. Preservation injury to the human small bowel graft: Jejunum vs. Ileum. *Ann Transplant* 2007; 12: 15-18.

74. Cho SS, Rudloff I, Berger PJ, et al. Remifentanil ameliorates intestinal ischemia-reperfusion injury. *BMC Gastroenterol* 2013; 22: 69 (Publicación electrónica)
75. Websky MV, Fujishiro J, Ohsawa I, et al. The Novel Guanylhydrazone CPSI-2364 Ameliorates Ischemia Reperfusion Injury After Experimental Small Bowel Transplantation. *Transplantation* 2013; 17 (Publicación electrónica)
76. Levi DM, Tzakis AG, Kato T et al. Transplantation of the abdominal wall. *Lancet* 2003; 361: 2173-2176.
77. Hoffman AL, Makowka L, Banner B, et al. The use of FK-506 for small intestine allotransplantation. Inhibition of acute rejection and prevention of fatal graft-versus-host disease. *Transplantation* 1990; 49: 483-490.
78. Zanfi C, Lauro A, Cescon M, et al. Daclizumab and alemtuzumab as induction agents in adult intestinal and multivisceral transplantation: rejection and infection rates in 40 recipients during the early postoperative period. *Transplant Proc.* 2010; 42: 35-38.
79. Abu-Elmagd K, Costa G, Bond GJ, et al. Evolution of the immunosuppressive strategies for the intestinal and multivisceral recipients with special reference to allograft immunity and achievement of partial tolerance. *Transplant Int* 2009; 22: 96-109.
80. Nayyar NS, McGhee W, Martin D, et al. Intestinal transplantation in children: a review of immunotherapy regimens. *Paediatr Drug.* 2011; 13: 149-159.
81. Carreño MR, Kato T, Weppler D, et al. Induction therapy with daclizumab as part of the immunosuppressive regimen in human small bowel and multiorgan transplants. *Transplant Proc.* 2001; 33: 1015-1017.
82. Campara M, Tzvetanov IG, Oberholzer J. Interleukin-2 receptor blockade with humanized monoclonal antibody for solid organ transplantation. *Expert Opin Biol Ther.* 2010; 10: 959-969.
83. Sudan DL, Chinnakotla S, Horslen S, et al. Basiliximab decreases the incidence of acute rejection after intestinal transplantation. *Transplant Proc.* 2002; 34: 940-941.

84. Reyes J, Mazariegos GV, Abu-Elmagd K, et al. Intestinal transplantation under tacrolimus monotherapy after perioperative lymphoid depletion with rabbit anti-thymocyte globulin (thymoglobulin). *Am J Transplant*. 2005; 5: 1430-1436.
85. Kimura T, Lauro A, Cescon M, et al. Impact of induction therapy on bacterial infections and long-term outcome in adult intestinal and multivisceral transplantation: a comparison of two different induction protocols: daclizumab vs. alemtuzumab. *Clin Transplant*. 2009; 23: 420-425.
86. Grant D. Current results of intestinal transplantation. The International Intestinal Transplant Registry. *Lancet* 1996; 29; 347: 1801-1803.
87. Grant D, Abu-Elmagd K, Reyes J, et al. 2003 report of the intestine transplant registry: a new era has dawned. *Ann Surg*. 2005; 241: 607-613.
88. Andres AM, Lopez Santamaría M, Ramos E, et al. The use of sirolimus as a rescue therapy in pediatric intestinal transplant recipients. *Pediatr Transplant*. 2010; 14: 931-935.
89. Fishbein TM, Florman S, Gondolesi G, et al. Intestinal transplantation before and after the introduction of sirolimus. *Transplantation*. 2002; 73: 1538-1542.
90. Horslen SP. Optimal management of the post-intestinal transplant patient. *Gastroenterology*. 2006; 130: 163-169.
91. Frade Mera, MJ; Jacue Izquierdo, S; Fontan Vinagre, G, et al. Evolución y cuidados del trasplante intestinal en el postoperatorio inmediato. *Enferm Intensiva*. 2007; 18: 61-69.
92. Remotti H, Subramanian S, Martinez M, et al. Small-bowel allograft Biopsies in the management of small-intestinal and multivisceral transplant recipients. Histopathologic review and clinical correlations. *Arch Pathol Lab Med* 2012; 136: 761-771.
93. Gupte GL, Haghghi KS, Sharif K, et al. Surgical complications after intestinal transplantation in infants and children--UK experience. *J Pediatr Surg*. 2010; 45: 1473-1478.
94. Lee RG, Nakamura K, Tsamandas AC, et al. Pathology of human intestinal transplantation. *Gastroenterology* 1996; 110:1820
95. Langnas A, Chinnakotla S, Sudan D, et al. Intestinal transplantation at the University of Nebraska Medical Center: 1990 to 2001. *Transplant Proc*. 2002; 34: 958-960.

96. Weseman R A. Review of incidence and management of chylous ascites after small bowel transplantation. *Nutr Clin Pract* 2007; 22: 482-484.
97. Kato T, Tzakis AG, Selvaggi G, et al. Intestinal and multivisceral transplantation in children. *Ann Surg*. 2006; 243: 756-766.
98. Loinaz C, Kato T, Nishida S, et al. Bacterial infections after intestine and multivisceral transplantation. The experience of the University of Miami (1994-2001). *Hepatology*. 2006; 53: 234-242.
99. Ruiz P, Kato T, Tzakis A. Current status of transplantation of the small intestine. *Transplantation* 2007; 83: 1-6.
100. Guaraldi G, Cocchi S, Codeluppi M, et al. Outcome, incidence, and timing of infectious complications in small bowel and multivisceral organ transplantation patients. *Transplantation* 2005; 80: 1742–1748.
101. Kato T, Selvaggi G, Gaynor JJ, et al. Inclusion of donor colon and ileocecal valve in intestinal transplantation. *Transplantation* 2008; 86: 293–297.
102. Florescu DF, Qiu F, MS, Vivekanandan R, et al. Risk factors and outcomes of *Staphylococcus aureus* infections after small bowel and multivisceral transplantation. *Pediatr Infect Dis J*. 2012; 31: 25-29.
103. Ziring D, Tran R, Edelstein S, et al. Infectious enteritis after intestinal transplantation: Incidence, timing and outcome. *Transplant Proc*. 2004; 36: 379–380.
104. Cainelli F, Vento S. Infections and solid organ transplant rejection: a cause-and-effect relationship? *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 539–549.
105. Manez R, Kusne S, Green M, et al. Incidence and risk factors associated with the development of cytomegalovirus disease after intestinal transplantation. *Transplantation* 1995; 59: 1010-1014.
106. Farmer DG, McDiarmid SV, Winston D, et al. Effectiveness of aggressive prophylactic and preemptive therapies targeted against cytomegaloviral and Epstein-Barr viral disease after human intestinal transplantation. *Transplant Proc* 2002; 34: 948–949

107. Talmon G.A. Histologic features of cytomegalovirus enteritis in small bowel allografts. *Transplant Proc.* 2010; 42:2671–2675.
108. Florescu DF, Islam MK, Mercer DF, et al. Adenovirus infections in pediatric small bowel transplant recipients. *Transplantation* 2010; 90:198–204.
109. Kaufman SS, Magid MS, Tschernia A, et al. Discrimination between acute rejection and adenoviral enteritis in intestinal transplant recipients. *Transplant Proc.* 2002; 34: 943-945.
110. Pinchoff RJ, Kaufman SS, Magid MS, et al. Adenovirus infection in pediatric small bowel transplantation recipients. *Transplantation* 2003; 76: 183–189.
111. McLaughlin GE, Delisb S, Kashimawo L, et al. Adenovirus infection in pediatric liver and intestinal transplant recipients: Utility of DNA detection by PCR. *Am. J Transplant.* 2003; 3: 224–228.
112. Kaufman SS, Chatterjee NK, Fuschino ME, et al. Calicivirus enteritis in intestinal transplant recipient. *Am J Transplant* 2003; 3: 764–768.
113. Adeyi OA, Costa G, Abu-Elmagd KM, et al. Rotavirus infection in adult small intestine allografts: a clinicopathological study of a cohort of 23 patients. *Am.. J Transplant.* 2010; 10: 2683–2689.
114. Pagano J. Viruses and lymphomas. *New Engl J Med* 2002; 347: 78-79.
115. Florescu DF, Islam KM, Grant W, et al. Incidence and outcome of fungal infections in pediatric small bowel transplant recipients. *Transpl Infect Dis.* 2010; 12: 497–504.
116. Anonymous. Terminology for hepatic allograft rejection. International working party. *Hepatology* 1995; 22: 648-654.
117. Ruiz, P (2009). *Transplantation pathology* (1^a ed.) New York. Cambridge University Press.
118. Iwaki Y, Starzl TE, Yagihashi A, et al. Replacement of donor lymphoid tissue in small-bowel transplants. *Lancet* 1991; 337: 818–819.

119. Nakamura K, Nalesnik M, Todo S, et al. Lymphocyte trafficking using in situ hybridization and physioanatomy of the intestinal immune system small bowel transplantation. *Transplant Proc* 1992; 24: 1197–1198.
120. Wu T, Bond G, Martin D, et al. Histopathologic characteristics of human intestine allograft acute rejection in patients pretreated with thymoglobulin or alemtuzumab. *Am J Gastroenterol*. 2006; 101: 1617-1624.
121. Selbst MK, Ahrens WA, Robert ME, et al. Spectrum of histologic changes in colonic biopsies in patients treated with mycophenolate mofetil. *Mod Pathol*. 2009; 22: 737-743.
122. Lee S, de Boer WB, Subramaniam K, et al. Pointers and pitfalls of mycophenolate-associated colitis. *J. Clin Pathol*. 2013; 66: 8-11.
123. Selvaggi G, Gaynor JJ, Moon J, et al. Analysis of acute cellular rejection episodes in recipients of primary intestinal transplantation: a single center, 11-year experience. *Am J Transplant*. 2007; 7: 1249-1257.
124. Kubal CA, Mangus RS, Vianna RM, et al. Impact of Positive Flow Cytometry Crossmatch on Outcomes of Intestinal/Multivisceral Transplantation: Role Anti-IL-2 Receptor Antibody. *Transplantation*. 2013; 21 (publicación electrónica).
125. Kiyochi H, Kellersmann R, Blömer A, et al. Rat-to-mouse small bowel xenotransplantation: a novel model for studying acute vascular and hyperacute xenograft rejection and xenogenic cell migration. *Xenotransplantation* 1999; 6: 28-35.
126. Ruiz P, Carreno M, Wepler D, et al. Immediate antibody-mediated (hyperacute) rejection in small-bowel transplantation and relationship to cross-match status and donor-specific C4d-binding antibodies: case report. *Transplant Proc*. 2010; 42: 95-99.
127. Ruiz P, Garcia M, Pappas P, et al. Mucosal vascular alterations in isolated small-bowel allografts: relationship to humoral sensitization. *Am J Transplant*. 2003; 3:43-49.
128. Ruiz P, Garcia M, Pappas P, et al. Mucosal vascular alterations in the early posttransplant period of small bowel allograft recipients may reflect humoral-based allograft rejection. *Transplant Proc*. 2002; 34:869-871.

129. Racusen LC, Colvin RB, Solez K, et al. Antibody-mediated rejection criteria—an addition to the Banff 97 classification of renal allograft rejection. *Am. J Transplant.* 2003; 3: 708–714
130. Takemoto SK, Zeevi A, Feng S, et al. National conference to assess antibody-mediated rejection in solid organ transplantation. *Am. J Transplant.* 2004; 4: 1033-1041.
131. Sis B, Mengel M, Haas M, et al. Banff '09 meeting report: antibody mediated graft deterioration and implementation of Banff working groups. *Am J Transplant* 2010; 10: 464–471.
132. Berry GJ, Angelini A, Burke MM, et al. The ISHLT working formulation for pathologic diagnosis of antibody-mediated rejection in heart transplantation: Evolution and current status (2005–2011). *J Heart Lung Transplant* 2011; 30: 601–611.
133. Gierej B, Górnicka B, Wasiutyński A. Role of C3d and C4d complement fragments in the diagnostics of acute allograft rejection after transplantations. *Ann Transplant.* 2009; 14: 61-70.
134. Montgomery RA, Cozzi E, West LJ, et al. Humoral immunity and antibody-mediated rejection in solid organ transplantation. *Semin Immunol* 2011; 23: 224–234.
135. Murata K, Baldwin WM. Mechanism of complement activation, C4d deposition and their contribution to the pathogenesis of antibody-mediated rejection. *Transplant Rev* 2009; 23: 139–150.
136. Troxell ML, Higgins JP, Kambham N. Evaluation of C4d staining in liver and small intestine allografts. *Arch Pathol Lab Med.* 2006; 130: 1489-1496.
137. Dick AA, Horslen S. Antibody-mediated rejection after intestinal transplantation. *Curr Opin Organ Transplan* 2012; 17: 250-257.
138. de Serre NP, Canioni D, Lacaille F, et al. Evaluation of c4d deposition and circulating antibody in small bowel transplantation. *Am J Transplant.* 2008 ;8: 1290–1296.
139. Lee RG, Tsamandas AC, Abu-Elmagd K, et al. Histologic spectrum of acute cellular rejection in human intestinal allografts. *Transplant Proc.* 1996; 28:2767.

140. Kato T, Gaynor J.J, Nishida S, et al. Zoom endoscopic monitoring of small bowel allograft rejection. *Surg Endosc* 2006; 20: 773–782.
141. Wu T, Abu-Elmagd K, Bond G, et al: A schema for grading of small intestine allograft acute rejection. *Transplantation* 2003; 75: 1241-1248.
142. Sudan DL, Kaufman S, Horslen S, et al. Incidence, timing, and histologic grade of acute rejection in small bowel transplant recipients. *Transplant Proc.* 2000; 32:1199.
143. Ruiz P, Bagni A, Brown R, et al. Histological criteria for the identification of acute cellular rejection in human small bowel allografts: results of the pathology workshop at the VIII International Small Bowel Transplant Symposium. *Transplant Proc.* 2004; 36: 335–337.
144. Kato T, Ruiz P, Tzakis A. Exfoliative bowel rejection—a dangerous loss of integrity. *Pediatr Transplant.* 2004; 8: 426–427.
145. Ruiz P, Wepler D, Nishida S, et al. International grading scheme for acute rejection in small bowel transplantation: implementation and experience at the University of Miami. *Transplant Proc.* 2006; 38: 1683–1684.
146. Ruiz P, Takahashi H, Delacruz V, et al. International grading scheme for acute cellular rejection in small-bowel transplantation: single-center experience. *Transplant Proc.* 2010; 42: 47–53.
147. Garcia M ,de la Cruz V, Ortiz R, et al. Acute cellular rejection grading scheme for human gastric allografts. *Hum Pathol* 2004; 35: 343-349
148. Takahashi H, Kato T, Delacruz V. Analysis of acute and chronic rejection in multiple organ allografts from retransplantation and autopsy cases of multivisceral transplantation. *Transplantation.* 2008; 85: 1610-1616
149. Talmon GA, Saigh QM, DiMaio D, et al. Characterization of epithelial apoptosis in biopsies of small-bowel allografts using cleaved caspase 3 immunostaining. *Int J Surg Pathol.* 2010; 18: 482–487.
150. Tsuruyama T, Okamoto S, Fujimoto Y, et al. Histology of intestinal allografts: lymphocyte apoptosis and phagocytosis of lymphocytic apoptotic bodies are diagnostic

- findings of acute rejection in addition to crypt apoptosis. *Am J Surg Pathol.* 2013; 37: 178-184.
151. Ningappa M, Ashokkumar C, Ranganathan S, et al. Mucosal Plasma Cell Barrier Disruption During Intestine Transplant Rejection. *Transplantation* 2012; 94: 1236-1242.
152. Mercer DF. Hot topics in postsmall bowel transplantation: noninvasive graft monitoring including stool calprotectin and plasma citrulline. *Curr Opin Organ Transplant* 2011; 16: 316–322.
153. Parizhskaya M, Redondo C, Demetris A, et al. Chronic rejection of small bowel grafts: pediatric and adult study of risk factors and morphologic progression. *Pediatr Dev Pathol.* 2003; 6: 240-250.
154. Rosemurgy AS, Schraut WH. Small bowel allografts. Sequence of histologic changes in acute and chronic rejection. *Am J Surg* 1986; 151: 470–475.
155. Finn L, Reyes J, Bueno J, et al. Epstein-Barr virus infections in children after transplantation of the small intestine. *Am J Surg Pathol.* 1998; 22: 299–309.
156. Allen UD, Farkas G, Hebert D, et al. Risk factors for post-transplant lymphoproliferative disorder in pediatric patients: a case-control study. *Pediatr Transplant.* 2005; 9: 450–455.
157. Quintini C, Kato T, Gaynor JJ, et al. Analysis of risk factors for the development of posttransplant lymphoproliferative disorder among 119 children who received primary intestinal transplants at a single center. *Transplant Proc.* 2006; 38: 1755–1758.
158. Swerdlow SH, Webber SA, Chadburn A, Ferry JA. Post-transplant lymphoproliferative disorders. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, et al, eds. *WHO classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue.* Lyon, France: IARC Press; 2008: 343–349.
159. Leblond V, Dhedin N, Mamzer Bruneel MF, et al. Identification of prognostic factors in 61 patients with posttransplantation lymphoproliferative disorders. *J Clin Oncol.* 2001; 19: 772-778.

160. Abu-Elmagd KM, Mazariegos G, Costa G, Soltys K, et al. Lymphoproliferative disorders and de novo malignancies in intestinal and multivisceral recipients: improved outcomes with new outlooks. *Transplantation*. 2009 15; 88: 926-934.
161. Zhang Y, Ruiz P. Solid organ transplant-associated acute graft-versus-host disease. *Arch Pathol Lab Med*. 2010; 134: 1220-1224.
162. Mazariegos GV, Abu-Elmagd K, Jaffe R, et al. Graft versus host disease in intestinal transplantation. *Am J Transplant*. 2004; 4: 1459–1465.
163. Cai J. Intestine and multivisceral transplantation in the United States: a report of 20-year national registry data (1990-2009). *Clin Transpl*. 2009:83-101
164. Abu-Elmagd KM, Costa G, Bond GJ, Soltys K, et al. Five hundred intestinal and multivisceral transplantations at a single center: major advances with new challenges. *Ann Surg*. 2009; 250:567-581.
165. Vianna RM, Mangus RS, Fridell JA, et al. Initiation of an intestinal transplant program: the Indiana experience. *Transplant*. 2008; 85: 1784-1790.
166. Selvaggi G, Nishida S, Levi D, et al. Intestinal and multivisceral transplantation at the University of Miami. *Clin Transpl*. 2009; 211-217.
167. Zanfi C, Lauro A, Cescon M, et al. Comprehensive surgical intestinal rescue and transplantation program in adult patients: Bologna experience. *Transplant Proc*. 2010; 42:39-41.
168. Ueno T, Wada M, Hoshino K, et al. Current status of intestinal transplantation in Japan. *Transplant Proc*. 2011; 43:2405-2407.
169. Wang DP, Tang J, He XS, et al. Clinical analysis on multivisceral transplantation. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi*. 2010; 482:1800-1804
170. Vianna RM, Mangus RS, Tector AJ. Current status of small bowel and multivisceral transplantation. *Adv Surg*. 2008; 42: 129–150.
171. Mangus RS, Tector AJ, Kubal CA, et al. Multivisceral transplantation: expanding indications and improving outcomes. *J Gastrointest Surg*. 2013; 17: 179-187.

172. Gomez-Lobo V, Landy HJ, Matsumoto C, et al. Pregnancy in an intestinal transplant recipient. *Obstet Gynecol.* 2012 ;120:497-500.
173. Golfieri L, Lauro A, Tossani E, et al. Psychological adaptation and quality of life of adult intestinal transplant recipients: University of Bologna experience. *Transplant Proc.* 2010; 42:42-44.
174. Desai CS, Khan KM, AC, et al. Intestinal retransplantation: analysis of Organ Procurement and Transplantation Network database. *Transplantation.* 2012; 15: 120-125
175. Mumby PJ. Statistical power of non-parametric tests: a quick guide for designing sampling strategies. *Mar Pollut Bull.* 2002; 44:85-87.
176. Bustad A, Terziivanov D, Leary R, et al. Parametric and nonparametric population methods: their comparative performance in analysing a clinical dataset and two Monte Carlo simulation studies. *Clin Pharmacokinet.* 2006; 45:365-383.
177. Rosai J and Ackerman's Surgical Pathology 9th ed. Mosby, NY, EUA. 2004.
178. Suvarna S, Layton C, Bancroft J. Bancroft's theory and practice of histological techniques. 7th ed. Elsevier, Reino Unido. 2013.
179. Wachtel MS et al. Tissue calcification alter orthotopic liver transplantation. An autopsy study. *Arch Pathol Lab Med* 1992; 116:930-933.
180. Munoz SJ, et al. Ectopic soft tissue calcium deposition following liver transplantation. *Hepatology* 1988; 8:476-483.

