



ORIGINAL

## Flujo mesentérico en un modelo experimental por isquemia-reperfusión en ratas

F. Cáceres<sup>a,\*</sup>, M. Castañón<sup>a,b</sup>, J. Lerena<sup>a</sup>, V. Cusi<sup>c</sup>, J. Badosa<sup>d</sup> y L. Morales<sup>e</sup>

<sup>a</sup> Servicio de Cirugía Pediátrica, Hospital Sant Joan de Déu, Esplugues de Llobregat, Barcelona, España

<sup>b</sup> Sección de Cirugía Neonatal, Hospital Sant Joan de Déu, Esplugues de Llobregat, Barcelona, España

<sup>c</sup> Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Sant Joan de Déu, Esplugues de Llobregat, Barcelona, España

<sup>d</sup> Servicio de Diagnóstico por la Imagen, Hospital Sant Joan de Déu, Esplugues de Llobregat, Barcelona, España

<sup>e</sup> Cátedra de Pediatría, Universidad de Barcelona, Hospital Sant Joan de Déu, Universidad de Barcelona, Esplugues de Llobregat, Barcelona, España

Recibido el 7 de enero de 2013; aceptado el 19 de mayo de 2013

Disponible en Internet el 3 de julio de 2013

### PALABRAS CLAVE

Mesentérico;  
Ecografía;  
Isquemia;  
Reperfusión;  
Rata

### Resumen

**Introducción:** La oclusión aguda mantenida seguida de la reperfusión de la arteria mesentérica superior (AMS) puede desencadenar en pocas horas el daño irreversible del intestino. Nuestro objetivo fue determinar los cambios de flujo mesentérico medidos por ecografía Doppler color y la correlación con las lesiones histológicas en un modelo experimental de isquemia-reperfusión.

**Material y método:** Se estudiaron 3 grupos (control, isquemia y reperfusión) de ratas Sprague-Dawley de 17 días de vida. El modelo utilizado fue de isquemia-reperfusión sobre la AMS. Posteriormente, realizamos una ecografía intraabdominal. Las variables ecográficas fueron: velocidad sistólica máxima (VSM), velocidad media (Vm), flujo diastólico (FD) y los índices de pulsatilidad (IP), resistencia (IR) y sistole/diástole (S/D). Las variables histológicas fueron: lesión intestinal (escala Wallace/Keenan y Chiu), morfométricas (altura [AMV] y espesor medio de vellosidades) y células caliciformes. Utilizamos la correlación de Spearman (rs).

**Resultados:** En el grupo reperfusión la VSM (74,3 cm/s), el IP (7,33) y S/D (25,75) en la AMS se encuentran aumentados respecto a los controles (41,35 cm/s [3,12]; [12,45]). La VSM, IP y S/D establecieron regresiones significativas ( $p < 0,01$ ) con: Wallace/Keenan (rs = 0,655; rs = 0,593; rs = 0,63), Chiu delgado (rs = 0,569; rs = 0,522; rs = 0,47), la AMV (rs = -0,495; rs = -0,452; rs = -0,459), y células caliciformes del colon (rs = -0,525; rs = -0,45; rs = -0,518).

**Conclusiones:** En la fase de reperfusión el incremento del flujo mesentérico expresado por la VSM y el IP podría pronosticar de forma significativa el potencial daño intestinal que ocurre a nivel macroscópico y microscópico.

© 2013 Asociación Española de Pediatría. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [fcaceres@hsjdbcn.org](mailto:fcaceres@hsjdbcn.org) (F. Cáceres).

**KEYWORDS**

Mesenteric flow;  
 Ultrasound;  
 Ischaemia;  
 Reperfusion;  
 Rat

**Mesenteric flow in an experimental model of ischaemia-reperfusion in rats****Abstract**

*Introduction:* Maintained acute occlusion followed by reperfusion of the superior mesenteric artery (SMA) in a few hours can trigger irreversible bowel damage. The aim of the study was to determine the changes in mesenteric flow measured by colour Doppler Ultrasound and correlating with histological lesions in an experimental model of ischaemia-reperfusion.

*Method and material:* Three groups of Sprague-Dawley 17 day-old rats were studied (control, ischemia and reperfusion). The model used was ischaemia-reperfusion over the SMA. Intra-abdominal ultrasound was then performed. The parameters recorded were: Maximum systolic velocity (MSV), pulsatility index (PI), resistance (RI) and systole-diastole (S/D). The histological variables were: intestinal lesion (Wallace/Keenan-Chiu scale), morphometrics (mean villus height [MVH]), and goblet cells. The Spearman (rs) correlation was used.

*Results:* The MSV in the reperfusion group was 74.3 cm/s, the PI 7.33 and S/D 25.75 in the SMA, which were higher than the controls (41.35 cm/s; 3.12 and 12.45, respectively). A direct association ( $P < .01$ ) was found between MSV, PI and S/D regarding: Wallace/Keenan scoring system (rs = 0.655; rs = 0.593; rs = 0.63) and the Chiu (rs = 0.569; rs = 0.522; rs = 0.47). While the correlation was the reverse ( $P < .01$ ) when associated with the MVH (rs = -0,495; rs = -0,452; rs = -0,459) and goblet cells of the colon (rs = -0,525; rs = -0,45; rs = -0,518).

*Conclusions:* The reperfusion phase increased mesenteric flow expressed by the MSV and PI and could significantly predict the potential bowel damage at macroscopic and microscopic level.

© 2013 Asociación Española de Pediatría. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

**Introducción**

Respecto al flujo mesentérico podemos comentar que la fuente principal de irrigación del páncreas, intestino delgado, colon ascendente y transversal es la arteria mesentérica superior (AMS). Es así que una oclusión aguda en su tronco principal puede desencadenar necrosis en pocas horas o la muerte<sup>1,2</sup>.

En la enterocolitis necrosante (ECN) de etiología multifactorial, una de las causas que se relaciona con la enfermedad es el proceso de isquemia-reperusión caracterizada por inflamación, lesión y daño del intestino, que progresa hacia la necrosis transmural y perforación<sup>3,4</sup>.

Optar por un tratamiento médico o quirúrgico en ocasiones es difícil; actualmente en muchos centros se aplican los criterios modificados de Bell<sup>5</sup>. Creemos que investigar la correlación del flujo mesentérico medido por ecografía Doppler color y el cambio patológico de la lesión intestinal en un modelo animal de isquemia-reperusión puede ser útil para la toma de decisiones terapéuticas. La ecografía no es una prueba diagnóstica de rutina en la ECN, sin embargo, estudios del flujo mesentérico en neonatos humanos<sup>1,6-11</sup> y animales de experimentación<sup>12,13</sup> nos aportan algunos criterios aislados del proceso de isquemia-reperusión como una de las causas de ECN.

**Material y método**

Se estudiaron ratas Sprague-Dawley (Harlan Interfauna, Barcelona, España) de 17 días de vida con un peso entre 21 y 36 g. Fueron alimentadas con *pellet* de dieta y agua *ad libitum*. El experimento fue aprobado por el Comité Ético de Experimentación Animal de la Universidad de Barcelona.

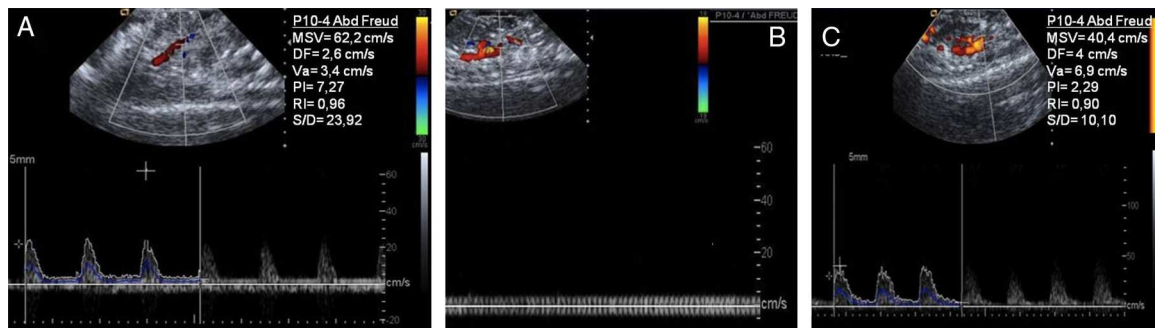
**Modelo animal**

Se aplicó un modelo de isquemia-reperusión desarrollado por nuestro grupo<sup>14</sup>. Los animales fueron anestesiados con isoflorano (inhalaado), practicando una laparotomía media suprainfraumbilical, se exteriorizó el intestino delgado para proceder al pinzamiento (animales que se reperfundieron) o ligadura con seda circular 6/0 (animales que no se reperfundieron) de los vasos mesentéricos superiores durante 60 min. La oclusión vascular fue confirmada por la pérdida de pulsación en el mesenterio. Durante el tiempo que duró la oclusión, el intestino fue reintroducido en la cavidad abdominal y fue irrigado con suero fisiológico. Tras los 60 min de isquemia se retiró la pinza vascular y se comprobó que la reperusión que duro 24 h. Se procedió al cierre de la cavidad abdominal en un sólo plano con seda 4/0. Las ratas del grupo reperusión fueron alimentadas con *pellet* de dieta y agua *ad libitum* por 24 h.

**Ecografía adaptada al modelo animal**

Se utilizó un equipo ecográfico Siemens Sonoline Antares™ (Siemens Medical Systems, Malvern, PA, EE. UU.). Se creó un patrón estándar (Abd Freud) validado por el Servicio de Diagnóstico por la Imagen del Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona, el mismo que fue almacenado y aplicado en todos animales.

A los 60 min del tiempo de apertura de la cavidad abdominal, 60 min de isquemia y 24 h de reperusión, se aprovechó la laparotomía media para exteriorizar nuevamente el intestino delgado, aplicar un transductor P10-4 (4-10 MHz) intraabdominal y observar en sentido sagital la



**Figura 1** Valoración del flujo en la arteria mesentérica superior (AMS). Transductor (4-10 MHz) P10-4. A) Grupo control: se observa valores en condiciones normales. B) Grupo isquemia: ausencia de flujo sobre la AMS, no existe registro flujométricos. C) Grupo control: se observa nuevamente un registro flujométrico con un incremento de sus valores.

AMS. En todo momento, se utilizó el color para identificar los vasos. El estudio eco-Doppler color tuvo una duración de 10 min aproximadamente con el fin medir, capturar y almacenar imágenes estáticas y en movimiento del flujo mesentérico. La velocidad y el flujo se registraron en centímetros por segundo (cm/s) y los índices de resistencia medidos fueron: Pourcelot<sup>15</sup> (pulsatilidad), Gosling<sup>16</sup> (resistencia) y FitzGerald<sup>17</sup> (sístole/diástole).

## Diseño experimental

Grupo control (n=10): posterior a la exposición de la cavidad abdominal por 60 min (no isquemia ni reperusión), se practicaron una ecografía Doppler color intraabdominal y toma de muestras.

Grupo isquemia (n=10): posterior a la isquemia (ligadura) por 60 min, se practicaron ecografía Doppler color intraabdominal y toma de muestras.

Grupo reperusión (n=16): se realizó isquemia (pinza) y la reperusión, tal y como se ha descrito en el modelo experimental. Posterior a las 24 h de la reperusión, se practicó una segunda laparotomía para realizar una ecografía Doppler color intraabdominal y toma de muestras.

En todos los grupos los animales fueron sacrificados al finalizar el estudio.

## Estudio de ecografía Doppler color

Se colocó el cursor entre la sístole de la primera curva y la diástole de la tercera curva de la AMS, partiendo de que es importante obtener un patrón continuo de 5 curvas como mínimo (fig. 1). Se dibujó automáticamente sobre las 3 ondas marcadas, el recorrido del flujo de los siguientes parámetros: velocidad sistólica media (VSM), flujo diastólico (FD), velocidad media (Vm) y los índices de pulsatilidad (IP), de resistencia (IR) y sístole-diástole (S/D).

## Estudio de anatomía patológica

Macroscópico: la cavidad abdominal fue inspeccionada y se anotó la presencia o no de dilatación intestinal, cambios en la coloración de la serosa, ascitis y/o perforación. Se utilizó un sistema de puntuación macroscópico que va de 0-5, descrito por Wallace y Keenan<sup>18</sup>: 0 (normal), 1 (hiperemia local

sin ulceración), 2 (ulceración sin hiperemia), 3 (ulceración con hiperemia en un punto), 4 (ulceración con hiperemia en 2 o más sitios) y 5 (ulceración que se extiende más de 2 cm en varios puntos)

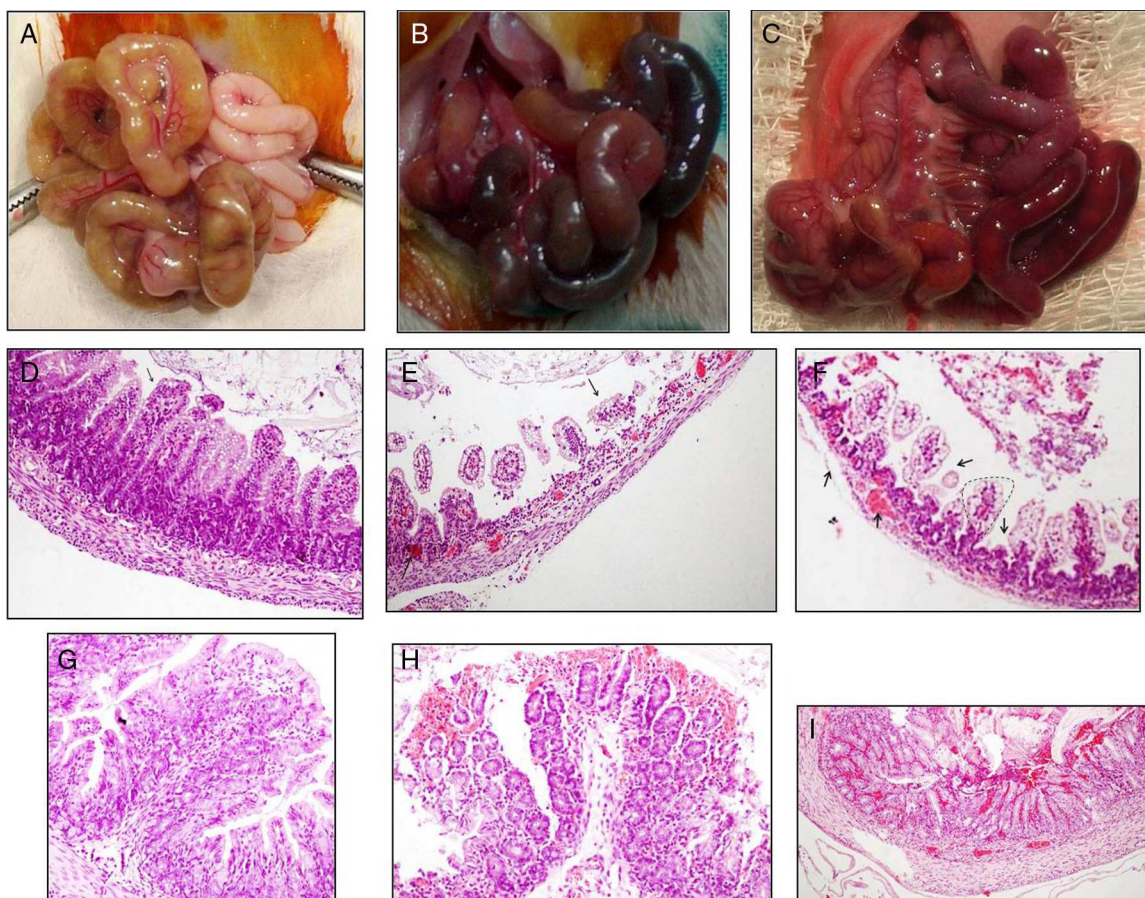
Microscópico: se tomaron muestras a 3 cm del íleon distal y 1 cm de la ampolla del colon de cada animal. Estas muestras fueron lavadas en phosphate buffered saline, fijadas en formol al 10% durante 24 h, y fueron teñidas con hematoxilina-eosina. El estudio microscópico tuvo un control externo (Servicio de Anatomía Patológica) que desconocía la procedencia de origen de las muestras estudiadas. Las mediciones detalladas a continuación fueron realizadas a una magnificación de  $20\times/0,40$ .

El estudio de lesión intestinal (vellosidades) fue puntuado por la escala de Chiu<sup>19</sup>, la misma que va de 0 a 5, como la describimos a continuación: 0 (normal), 1 (espacio subepitelial de Gruenhagen; congestión capilar), 2 (separación moderada entre el epitelio y la lámina propia), 3 (separación masiva del epitelio que se extiende hacia la base de la vellosidad; algunas vellosidades aparecen denudadas), 4 (denudación de múltiples vellosidades con exposición de la lámina propia y de los capilares dilatados) y 5 (digestión y desintegración de la lámina propia; hemorragia y ulceración).

El estudio morfométrico medido en micras ( $\mu\text{m}$ ) comprendió la altura media de vellosidades (AMV) y espesor medio de vellosidades (EMV)<sup>14</sup>. La altura de la vellosidad fue calculada dibujando una línea desde el vértice de la misma hasta su base. El espesor de una vellosidad fue calculado midiendo el ancho de la vellosidad. Además, observamos la arquitectura de la vellosidad (regeneración o atrofia). Estas mediciones expresadas en porcentaje fueron repetidas en al menos el 70% de las vellosidades de cada sección y se calculó la media.

Otros hallazgos histológicos que consideramos analizarlos fueron los siguientes: neumatosis, perforación, hipertrofia glandular, células calciformes y mitosis<sup>20</sup>. Se repitió esta valoración en todas las secciones de cada corte en tanto por ciento y se calculó la media.

El estudio descriptivo fue expresado en forma de mediana (rangos). De los resultados significativos a la prueba de Kruskal-Wallis, se realizó la comparación mediante la prueba U de Mann-Whitney y la correlación de rangos de Spearman ( $r_s$ ). Consideramos significativa una  $p < 0,01$ . Se utilizó el programa SPSS versión 17.



**Figura 2** Lesión intestinal. Puntuación macroscópica de Wallace/Keenan. A) Grupo control (0), ausencia de signos de dilatación o lesión intestinal. B) Grupo isquemia (5), dilatación intestinal y signos importantes de isquemia con zonas de necrosis. C) Grupo reperusión (4 [3-5]), dilatación intestinal y signos de isquemia. Puntuación microscópica Chiu. D) Mucosa del íleon distal del grupo control (0) en la que se aprecian microvellosidades de características normales (flecha) con conservación de la AMV y EMV. E) Denudación masiva y necrosis más intensa de vellosidades en el íleon distal con zonas más marcadas de atrofia (flecha) en el grupo isquemia (4,46 [4,25-4,67]), además de un acortamiento intenso de la vellosidades. F) Denudación masiva, necrosis y zonas de hemorragia (flecha) de vellosidades en el íleon distal del grupo reperusión (3 [2,86-3,5]), además de zonas de regeneración (línea punteada) con un acortamiento de la AMV y EMV. G) Mucosa del colon en el grupo control (0) de características normales. H) Mucosa del colon en el grupo isquemia (2,67 [2,33-3,33]), con zonas de hemorragia y necrosis focal. I) Mucosa del colon en el grupo reperusión (3,1 [2,76-3,6]) con zonas de hemorragia más marcadas (flecha) y necrosis focal transmural.

Los datos se expresan como mediana (rango intercuartil).

$p < 0,001$  frente al grupo control.

$p < 0,001$  frente al grupo isquemia.

## Resultados

### Cambios del flujo mesentérico por isquemia-reperusión

Se observó un incremento significativo (fig. 1) en el grupo reperusión ( $p < 0,01$ ) de la VSM, el IP, el IR y el S/D,) y un descenso de la Vm y el FD.

### Lesión intestinal macroscópica por isquemia-reperusión

Las lesiones, según el sistema de puntuación modificado de Wallace y Keenan ( $p < 0,001$ ), para el grupo reperusión fue

4 (3-5) comparado con 5 del grupo isquemia y con 0 del grupo control (fig. 2A-c). No se encontró ascitis o perforación intestinal.

### Lesión intestinal microscópica por isquemia-reperusión

En el íleon, la lesión intestinal (fig. 2D-F), puntuada por la escala de Chiu, en el grupo reperusión mostró alteraciones significativas en la mucosa del intestino delgado en comparación con el grupo control ( $p < 0,001$ ). En todos los animales se apreció desde una separación masiva del espacio de Gruenhagen, denudación y desintegración de las vellosidades, hasta necrosis de la lámina propia, incluyendo en algunos casos necrosis transmural focal. Similares cambios

**Tabla 1** Parámetros morfométricos de las vellosidades intestinales. Se observa un acortamiento muy intenso en el grupo isquemia y un acortamiento moderado en el grupo reperusión al compararlo con el grupo control

Grupo vellosidades	Control Intestino delgado	Isquemia	Reperusión
AMV	260 (246-282)	74,5 (46-95) <sup>a</sup>	150 (138-246) <sup>*,**b</sup>
EMV	62 (58-70)	38 (30-52) <sup>a</sup>	67 (55-74) <sup>**</sup>

AMV: altura media de vellosidades ( $\mu\text{m}$ ); EMV: espesor medio de vellosidades ( $\mu\text{m}$ ); RI: rango intercuartil I-II.

Los datos son expresados como mediana (RI).

\*  $p < 0,001$  frente al grupo control.

\*\*  $p < 0,001$  frente al grupo isquemia.

pero de mayor intensidad se apreciaron en el grupo isquemia. En el colon (fig. 2G-I), el estudio microscópico del grupo reperusión (3,1 [2,76-3,6]) no demostró cambios significativos ( $p > 0,01$ ) en la mucosa respecto al grupo isquemia (2,67 [2,33-3,33]), pero sí mayores diferencias ( $p < 0,001$ ) respecto a los controles (0).

En el intestino delgado, la isquemia y la reperusión por 24 h (tabla 1) causaron un acortamiento de vellosidades respecto al grupo control (fig. 2D-F). Es así que en el grupo reperusión la AMV fue de 150 (138-246) comparado con 74,5 (46-95) del grupo isquemia y con 260 (246-282) del grupo control ( $p < 0,001$ ). Respecto al EMV, este parámetro morfométrico también se encontró afectado en los grupos reperusión e isquemia al compararlo con el grupo control (tabla 1).

### Otros hallazgos histológicos

Referente a la arquitectura de vellosidades, no encontramos diferencias significativas al valorar el porcentaje de atrofia; sin embargo; la regeneración (fig. 3A) fue una característica del grupo reperusión comparado con los grupos isquemia y control ( $p < 0,001$ ).

A pesar de encontrar casos aislados (4) de perforación en los grupos isquemia y reperusión, este no fue un hallazgo significativo. La neumatosis, tanto en el intestino delgado como en el colon, no fue observada en ningún grupo. La hipertrofia glandular en el intestino delgado no determinó diferencias significativas entre los grupos. Mientras que en el colon estas diferencias ( $p < 0,001$ ) estuvieron presentes en el grupo reperusión al comparar con los grupos isquemia y control (fig. 3B).

En el intestino delgado no se observaron diferencias significativas ( $p > 0,01$ ) respecto al recuento de células calciformes y mitosis. En el colon se observó un descenso significativo ( $p < 0,001$ ) de la población de células calciformes del grupo reperusión comparado con los grupos isquemia y control (fig. 3C). Respecto a la mitosis, no se apreciaron diferencias significativas.

### Ecografía Doppler color y anatomía patológica

Al correlacionar ( $r_s$ ) las variables ecográficas y de anatomía patológica, encontramos asociaciones directas significativas ( $p < 0,01$ ) entre la VSM, el IP y S/D respecto a: escala de Wallece/Keenan ( $r_s = 0,655$ ;  $r_s = 0,593$ ;  $r_s = 0,63$ ) y Chiu delgado ( $r_s = 0,569$ ;  $r_s = 0,522$ ;  $r_s = 0,47$ ), mientras que la

correlación fue de tipo inverso ( $p < 0,01$ ) al asociar con la AMV ( $r_s = -0,495$ ;  $r_s = -0,452$ ;  $r_s = -0,459$ ) y células calciformes del colon ( $r_s = -0,525$ ;  $r_s = -0,45$ ;  $r_s = -0,518$ ).

### Discusión

Respecto a la patogénesis de la lesión intestinal, existe una gran variedad de modelos experimentales que tratan de reproducir el fenómeno de isquemia-reperusión, sin encontrar un modelo ideal<sup>21</sup>.

### Flujo mesentérico

Estudios eco-Doppler efectuados por Kempley (prematuros de bajo peso) y Deeg (neonato a término) asociaron un incremento de la VSM en la AMS con ECN<sup>6,7</sup>. Sin embargo, Murdoch et al., al ajustar los resultados del estudio posnatal a la edad gestacional, no hallaron tal asociación<sup>10</sup>. Nuestra investigación experimental, al igual que Kempley y Deeg, registró un incremento de la VSM en el grupo de animales reperusión respecto al control (tabla 2). Estos estudios indican que la VSM es un parámetro útil para identificar recién nacidos prematuros de bajo peso con un riesgo potencial a presentar una lesión intestinal, como parte del proceso de isquemia-reperusión, que da origen a una de las causas de ECN<sup>3,4,7</sup>.

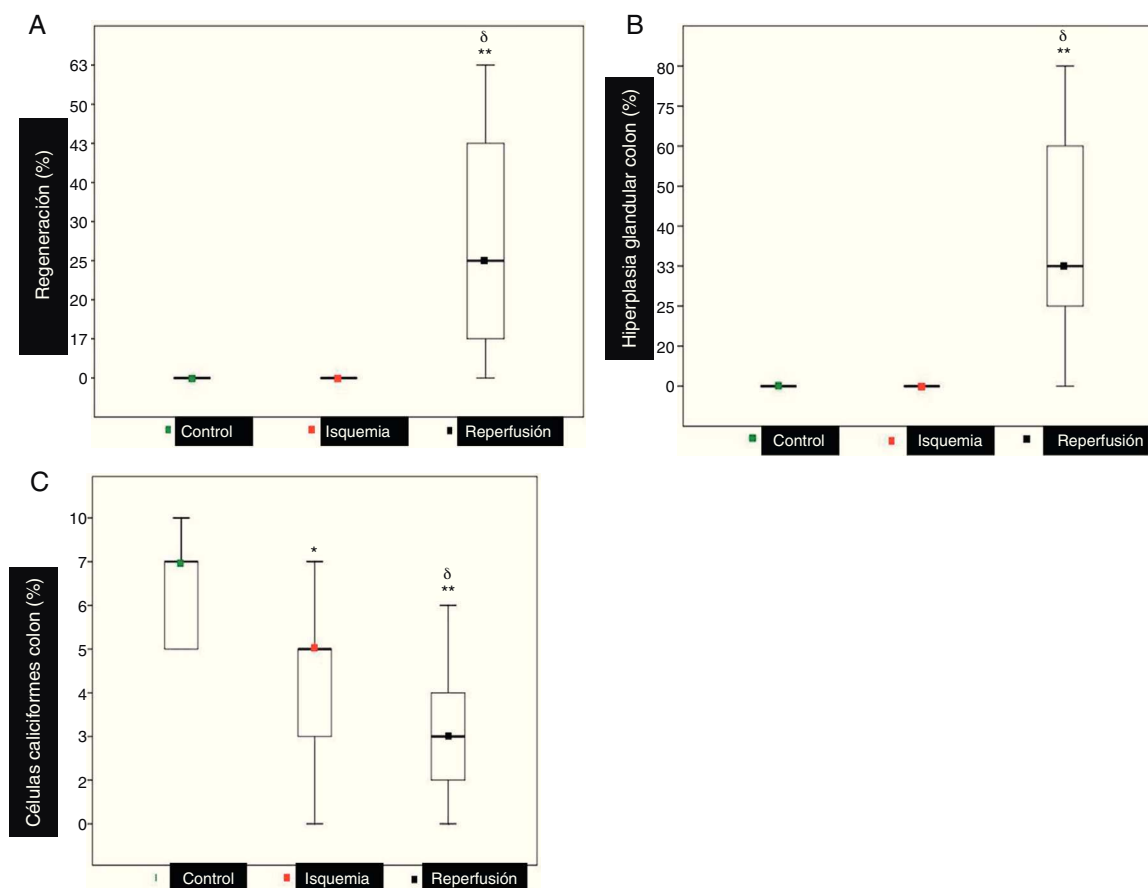
Existen pocos estudios posnatales sobre la AMS que busquen una asociación entre los índices de resistencia vascular (IP, IR y S/D)<sup>22</sup> con lesión intestinal. En cuanto IP, los primeros estudios en la AMS neonatal no reportaron resultados alentadores<sup>5</sup>; sin embargo, al ajustarlo a la edad gestacional este índice marco un valor significativo importante en el pronóstico de ECN<sup>10</sup>.

En nuestro trabajo, encontramos resultados más claros acerca de estos índices de resistencia vascular observando un incremento importante del IP y S/D en el grupo de animales reperusión, que constituyen una expresión indirecta de la regulación del flujo laminar en un vaso sanguíneo<sup>23</sup>.

Nosotros consideramos de utilidad el registro neonatal (prematuros de muy bajo peso) del IP y la VSM con factores pronóstico daño intestinal, en concordancia con varios autores<sup>24-28</sup> que destacan su asociación con la lesión hipoxia-isquémica intestinal y con ECN.

### Anatomía patológica

Los hallazgos más destacados de lesión intestinal, como hiperemia, ulceración, necrosis, denudación múltiple de



**Figura 3** Otros hallazgos histopatológicos. A) Se observa que la regeneración (25 [10-43]) es característica del grupo reperusión. B) La hipertrofia glandular del colon (33 [25-60]) es característica del grupo reperusión. C) El número de células caliciformes del colon en el grupo reperusión se encuentra disminuido (3 [2-4]) comparado con (5 [3-7]) del grupo isquemia y (7 [5-10]) del grupo control.

Los datos se expresan como mediana (rango intercuartil).

\*  $p < 0,001$  frente al grupo control.

\*\*  $p < 0,001$  frente al grupo control.

\*\*\*  $p < 0,001$  frente al grupo isquemia.

vellosidades, disminución de la AMV, regeneración y reducción de la población de células caliciformes, permitieron activar: la cascada de estrés oxidativa, productos de lipoperoxidación y subtipos de oxígeno reactivos que, a su vez,

promovieron un perfil de hiperexpresión de genes, los cuales se encuentran relacionados con mecanismos de defensa antioxidante según los estudios realizados en ratones endogámicos de 40 g. por Bertolotto et al.<sup>29</sup>.

**Tabla 2** Registro y comparación del flujo de la arteria mesentérica superior tras 60 min de oclusión intestinal y 24 h de reperusión, en los grupos control, isquemia y reperusión

Ecografía	Control	Isquemia	Reperusión
VSM	41,35 (39,4-60)	0**	74,3 (63,5-74,9)*,**
Vm	13,15(11,4-15,2)	0**	8,15 (7,5-10)*,**
DF	3,8 (3,6-4,6)	0**	2,6 (2,3-3,3)*,**
IP	3,12 (2,82-3,34)	0**	7,33 (6,63-9,64)*,**
IR	0,91 (0,9-0,93)	0**	0,96 (0,93-0,97)*,**
S/D	12,45 (9,59-14,48)	0**	25,75 (19,24-32,57)*,**

Los datos son expresados como mediana (RI).

FD: flujo diastólico (cm/s); IP: índice de pulsatilidad; IR: índice de resistencia; RI: rango intercuartil I-II; S/D: índice sístole/diástole; Vm: velocidad media (cm/s); VSM: velocidad sistólica máxima (cm/s).

\*  $p < 0,01$  frente al grupo control.

\*\*  $p < 0,001$ .

\*\*\*  $p < 0,001$  frente al grupo isquemia.

## Ecografía y anatomía patológica

Kim et al., en conejos de 10 a 12 semanas de vida (2 kg) en un modelo de ECN, observaron sobre la pared intestinal puntillados ecogénicos y granulaciones circunferenciales que tuvieron correlación con la congestión y la disminución de vellosidades, el edema submucoso y el infarto transmural de la serosa<sup>12</sup>. Choi et al., en conejos de 4 semanas de vida (486,6 g) en un modelo de ECN (lipopolisacárido más hipoxia), observaron que los animales con ECN presentaron durante las dos primeras horas del modelo experimental un incremento de la VSM y del IR, insinuando que la isquemia intestinal puede ser un gatillo del proceso de ECN<sup>13</sup>. Centrándonos en nuestro modelo, Guillaumon y Couto., en ratas de 39,7 días (244 g), encontraron una relación inversa entre el tiempo de isquemia y la recuperación intestinal en la fase de reperusión<sup>30</sup>, por lo que nuestros hallazgos del flujo mesentérico (incremento de VSM) fueron inversamente proporcionales al daño intestinal agudo macroscópico (Wallace/Keenan) y microscópico (Chiu y AMV).

Estudios anteriores ya comentados nos recuerdan el importante papel que desempeñan las células caliciformes como mecanismo de barrera intestinal<sup>31,32</sup>. En este sentido, Varga et al., en ratas de 250 g. aplicando un modelo de isquemia-reperusión, observaron la alta resistencia que tienen las células caliciformes para presentar una lesión por isquemia y cómo la producción de péptidos trefoil influye en la restitución epitelial, favoreciendo el proceso de regeneración<sup>14,33</sup>. Sin embargo, hay que considerar que los prematuros, por su condición de inmadurez, responden de forma poco efectiva a la isquemia y la hipoxia<sup>4</sup>, con lo cual el papel que pueden cumplir las células caliciformes como mecanismo de barrera se encuentra disminuido. Nuestra investigación observó una relación inversa entre la VSM y la población de células caliciformes en la fase de reperusión; estos hallazgos nos invitan a pensar que la regeneración intestinal fue poco efectiva y que el mecanismo de barrera proporcionado por las células caliciformes ha sufrido una lesión irreversible desencadenando una serie de procesos oxidativos e inmunitarios<sup>4,29,30,33</sup>.

Tenemos que referirnos a la importancia que tiene el neumoperitoneo como signo de perforación intestinal y lo que representa para el cirujano. Indicación absoluta de cirugía<sup>34,35</sup>. Silva, por su parte, sí logra demostrar en su trabajo que la ecografía tuvo alguna ventaja sobre la radiografía tradicional en el momento de observar gas libre abdominal<sup>9</sup>. Nuestro trabajo en ratas neonatales no fue tan optimista al correlacionar los parámetros Doppler de flujo mesentérico con perforación intestinal, quizás nuestros resultados se expliquen por las pocas horas de evolución del proceso de ECN (24 h).

El flujo mesentérico en neonatos prematuros es muy sensible durante los primeros días de vida, presentando una adaptación circulatoria transitoria como respuesta a los cambios hemodinámicos sistémicos y con el inicio de la alimentación enteral<sup>36</sup>. Estudios recientes en el periodo fetal<sup>37</sup> lactante menor<sup>38</sup> y de microcirculación<sup>39</sup> nos invitan a profundizar en nuevas investigaciones que colaboren con el diagnóstico y la evolución de la isquemia-reperusión como causa de ECN.

En conclusión, en la fase de reperusión, el incremento del flujo mesentérico expresado por la VSM y el IP podría pronosticar de forma significativa el potencial daño intestinal que ocurre a nivel macroscópico (hiperemia-úlceras-necrosis) y microscópico (disminución de vellosidades-destrucción de vellosidades-disminución de células caliciformes).

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## Bibliografía

- Gore RM, Yaghmai V, Thakrar KH, Berlin JW, Mehta UK, Newmark GM, et al. Imaging in intestinal ischemic disorders. *Radiol Clin North Am.* 2008;46:845-75.
- Narváez-Sánchez R, Chuaire L, Sánchez MC, Bonilla J. Circulación intestinal: su organización, control y papel en el paciente crítico. *Colombia Médica.* 2004;35:231-4.
- Guner YS, Chokshi N, Petrosyan M, Upperman JS, Ford HR, Grikscheit TC. Necrotizing enterocolitis –bench to bedside: novel and emerging strategies. *Semin Pediatr Surg.* 2008;17:255-65.
- Thompson AM, Bizzarro MJ. Necrotizing enterocolitis in newborns: Pathogenesis, prevention and management. *Drugs.* 2008;68:1227-38.
- Walsh MC, Kliegman RM. Necrotizing enterocolitis: Treatment based on staging criteria. *Pediatr Clin North Am.* 1986;33:179-201.
- Kempley ST, Gamsu HR. Superior mesenteric artery blood flow velocity in necrotizing enterocolitis. *Arch Dis Child.* 1992;67:793-6.
- Deeg KH, Rupperecht T, Schmid E. Doppler sonographic detection of increased flow velocities in the celiac trunk and superior mesenteric artery in infants with necrotizing enterocolitis. *Pediatr Radiol.* 1993;23:578-82.
- Kim WY, Kim WS, Kim IO, Kwon TH, Chang W, Lee EK. Sonographic evaluation of neonates with early-stage necrotizing enterocolitis. *Pediatr Radiol.* 2005;35:1056-61.
- Silva CT, Daneman A, Navarro OM, Moore AM, Moineddin R, Gerstle JT, et al. Correlation of sonographic findings and outcome in necrotizing enterocolitis. *Pediatr Radiol.* 2007;37:274-82.
- Murdoch EM, Sinha AK, Shanmugalingam ST, Smith GC, Kempley ST. Doppler flow velocimetry in the superior mesenteric artery on the first day of life in preterm infants and the risk of neonatal necrotizing enterocolitis. *Pediatrics.* 2006;118:1999-2003.
- Faingold R, Daneman A, Tomlinson G, Babyn PS, Manson DE, Mohanta A, et al. Necrotizing enterocolitis: Assessment of bowel viability with color doppler US. *Radiology.* 2005;235:587-94.
- Kim WY, Kim IO, Kim WS, Yeon KM, Kim GI, Lee SW, et al. Sonographic findings in a model of ischemia-induced necrotizing enterocolitis with pathological correlations. *Invest Radiol.* 2007;42:312-8.
- Choi YH, Kim IO, Cheon JE, Kim JE, Kim EK, Kim WS, et al. Doppler sonographic findings in an experimental rabbit model of necrotizing enterocolitis. *J Ultrasound Med.* 2010;29:379-86.
- Carrasco R, Pera M, May FE, Westley BR, Martinez A, Morales L. Trefoil factor family peptide 3 prevents the development and promotes healing of ischemia-reperfusion injury in weanling rats. *J Pediatr Surg.* 2004;39:1693-700.
- Pourcelot L. Applications cliniques de l'examen Doppler transcutané. In: *Velocimétrie Ultrasonore Doppler* (Perroneau P.ed.). Paris:Seminaire INSERM;1974, p. 213-40.

16. Gosling RG, Dunbar G, King DH, Newman DL, Side CD, Woodcock JP, et al. The quantitative analysis of occlusive peripheral arterial disease by a non-intrusive ultrasonic technique. *Angiology*. 1971;22:52–5.
17. FitzGerald DE, Drumm JE. Non-invasive measurement of human fetal circulation using ultrasound: A new method. *Br Med J*. 1977;2:1450–1.
18. Wallace JL, Keenan CM. An orally active inhibitor of leukotriene synthesis accelerates healing in a rat model of colitis. *Am J Physiol*. 1990;258:527–34.
19. Chiu CJ, McArdle AH, Brown R, Scott HJ, Gurd FN. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal. *Arch Surg*. 1970;101:478–83.
20. Ross MH, Pawlina W. *Histology: A text and atlas with correlated cell and molecular biology*. Baltimore: Lippincott, Williams & Wilkins; 2006.
21. Crissinger KD. Animal models of necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1995;20:17–22.
22. Harrison AM, Davis S, Reid JR, Morrison SC, Arrigain S, Connor JT, et al. Neonates with hypoplastic left heart syndrome have ultrasound evidence of abnormal superior mesenteric artery perfusion before and after modified Norwood procedure. *Pediatr Crit Care Med*. 2005;6:445–7.
23. Poiseuille JLM. Recherches experimentales sur le mouvement des liquides dans les tubes detres-petits diametres. In: *Memoires presentes par divers savants a l'Academie Royale des Sciences de l'Institut de France*;1846, p. 433-544.
24. Baschat AA. Doppler application in the delivery timing of the preterm growth-restricted fetus: another step in the right direction. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2004;23:111–8.
25. Kamoji VM, Dorling JS, Manktelow B, Draper ES, Field DJ. Antenatal umbilical Doppler abnormalities: An independent risk factor for early onset neonatal necrotizing enterocolitis in premature infants. *Acta Paediatr*. 2008;97:327–31.
26. Korszun P, Dubiel M, Breborowicz G, Danska A, Gudmundsson S. Fetal superior mesenteric artery blood flow velocimetry in normal and high-risk pregnancy. *J Perinat Med*. 2002;30:235–41.
27. Rhee E, Detti L, Mari G. Superior mesenteric artery flow velocity waveforms in small for gestational age fetuses. *J Matern Fetal Med*. 1998;7:120–3.
28. Robel-Tillig E, Vogtmann C, Bennek J. Prenatal hemodynamic disturbances –pathophysiological background of intestinal motility disturbances in small for gestational age infants. *Eur J Pediatr Surg*. 2002;12:175–9.
29. Bertoletto PR, Ikejiri AT, Somaio Neto F, Chaves JC, Teruya R, Bertoletto ER, et al. Oxidative stress gene expression profile in inbred mouse after ischemia/reperfusion small bowel injury. *Acta Cir Bras*. 2012;27:773–82.
30. Guillaumon AT, Couto MA. Hystopathological study of the intestinal epithelium submitted to different times of programmed ischemia and twenty four hours reperfusion. *Acta Cir Bras*. 2013;28:288–98.
31. Clark JA, Doelle SM, Halpern MD, Saunders TA, Holubec H, Dvorak K, et al. Intestinal barrier failure during experimental necrotizing enterocolitis: Protective effect of EGF treatment. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2006;291:938–49.
32. Schaart MW, de Bruijn AC, Bouwman DM, de Krijger RR, van Goudoever JB, Tibboel D, et al. Epithelial functions of the residual bowel after surgery for necrotising enterocolitis in human infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2009;49:31–41.
33. Varga J, Tóth Jr Š, Tóth Š, Tomečková V, Gregová K, Veselá J. The relationship between morphology and disaccharidase activity in ischemia- reperfusion injured intestine. *Acta Biochim Pol*. 2012;59:631–8.
34. Kafetzis DA, Skevaki C, Costalos C. Neonatal necrotizing enterocolitis: An overview. *Curr Opin Infect Dis*. 2003;16:349–55.
35. McAlister WH, Kronemer KA. Emergency gastrointestinal radiology of the newborn. *Radiol Clin North Am*. 1996;34:819–44.
36. Martinussen M, Brubakk AM, Vik T, Yao AC. Mesenteric blood flow velocity and its relation to transitional circulatory adaptation in appropriate for gestational age preterm infants. *Pediatr Res*. 1996;39:275–80.
37. Gindes L, Pretorius DH, Romine LE, Kfir M, D'Agostini D, Hull A, et al. Three-dimensional ultrasonographic depiction of fetal abdominal blood vessels. *J Ultrasound Med*. 2009;28:977–88.
38. Papacci P, Giannantonio C, Cota F, Latella C, Semeraro CM, Fioretti M, et al. Neonatal colour Doppler ultrasound study: Normal values of abdominal blood flow velocities in the neonate during the first month of life. *Pediatr Radiol*. 2009;39:328–35.
39. Watkins DJ, Besner GE. The role of the intestinal microcirculation in necrotizing enterocolitis. *Semin Pediatr Surg*. 2013;22:83–7.