

11210 3/91



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
HOSPITAL DE PEDIATRIA
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

[Handwritten signature]
63803

**USO DE PENTOXIFILINA EN EL MANEJO DE
LESION ISQUEMICA INTESTINAL
ESTUDIO EXPERIMENTAL EN RATAS**



T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
CIRUJANO PEDIATRA
P R E S E N T A
DR. SALVADOR CORONADO AGUIRRE

Asesor: DR. OSCAR CUELLAR GUERRA
Colaborador: DRA. ALICIA GEORGINA SIORDIA REYES

MEXICO, D. F.

1996



IMSS

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1997



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

TESIS SIN PAGINACION

COMPLETA LA INFORMACION

**USO DE PENTOXIFILINA
EN EL MANEJO
DE LESIÓN ISQUEMICA
INTESTINAL**

DEDICATORIA

- **A mi esposa: Tere**

Por apoyarme e impulsarme siempre hacia adelante.

- **A mis hijas: Blanca Arel y Mikha Noemi**

Por su cariño incondicional y sacrificio durante esta etapa en que estuvimos separados.

- **A mis Padres: Arturo y María Luisa**

Por alentarme y guiarme en cada etapa de mi vida.

- **A mis Hermanos.**

Por su cariño y comprensión durante esta fase de preparación.

Al Dr. Oscar Gueller Guerra

Por ser un ejemplo a seguir durante mi residencia y su apoyo incondicional en la tutoría de este trabajo.

A la Dra. Georgina Alicia Borda Reyes

Por su especial colaboración en la realización de este trabajo de investigación.

A mis maestros y compañeros .

Por hacerme sentir parte de una gran familia.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	6
ANTECEDENTES.....	7
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	13
JUSTIFICACIÓN.....	14
OBJETIVOS.....	15
HIPÓTESIS.....	16
MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
RESULTADOS.....	19
DISCUSIÓN.....	27
CONCLUSIONES.....	30
APENDICE.....	31
BIBLIOGRAFÍA.....	38

INTRODUCCIÓN

• La reducción del flujo sanguíneo hacia el intestino se puede manifestar por perfusión general deficiente, como sucede en el choque o insuficiencia cardíaca, o ser resultado de cambios morfológicos funcionales de los vasos espláncnicos. También el estrechamiento de los vasos mesentéricos principales, émbolos ateromatosos focales, vasculitis como consecuencia de enfermedad general y vasoconstricción mesentérica pueden producir circulación insuficiente a nivel tisular. Cualquiera que sea la causa, los resultados de la isquemia son los mismos: un espectro de lesión que varía en trastornos funcionales totalmente reversibles hasta necrosis hemorrágica transmural en parte del intestino o todo él.

• En el paciente pediátrico existe una amplia gama de entidades patológicas, que tienen como resultado final la necrosis de amplios segmentos intestinales, con consecuencias devastadoras en este grupo de edad. La más sobresaliente de estas se pueden considerar a la Enterocolitis Necrosante, no solo por el alto grado de morbilidad y mortalidad concomitantes, sino por la complejidad de sus múltiples mecanismos participantes en la producción de isquemia intestinal.

ANTECEDENTES

- La Enterocolitis Necrosante (ECN) es una entidad nosológica recién descrita, causante de una alta incidencia de morbilidad y mortalidad en la etapa neonatal. En la década de 1970 la ECN se convierte en la principal indicación quirúrgica de urgencia en el neonato y el problema gastrointestinal más frecuente en lactantes prematuros. En la actualidad la ECN entraña una morbilidad y mortalidad considerables y es causa de la mayor parte en los costos en la asistencia neonatal. (1-3)
- Son diversos los factores a los cuales se atribuye más a menudo la iniciación de la Enterocolitis Necrosante, entre ellos están, la isquemia, infección y sustrato intraluminal anormal; de éstos la isquemia es el que parece jugar un papel más sobresaliente dentro de la fisiopatología. Desde hace tiempo está establecido que la gravedad de la lesión intestinal inducida por isquemia, se relaciona de manera inversa al flujo sanguíneo. La lesión isquémica de la mucosa intestinal se produce cuando un tejido se ve privado de oxígeno y otros nutrientes indispensables para conservar el metabolismo e integridad celulares. (4-7)
- En 1969, Lloyd presentó una serie de 87 casos de perforación intestinal en neonatos, donde mas del 80% de ellos habían experimentado un periodo importante de asfisia y choque, postulando que estas lesiones activaron un mecanismo de defensa conocido como isquemia circulatoria selectiva o reflejo de buceo. Durante el periodo de asfisia y choque, este reflejo produce vasoconstricción de los lechos vasculares mesentéricos, renales y periféricos, conservando la circulación del corazón y cerebro, pudiendo ocasionar, áreas difusas de necrosis isquémica en el tubo digestivo, experimentando perforación. (9-10)
- Bailey y cols. han postulado que la isquemia intestinal que precede a la ECN se relaciona con la activación del Eje Renina-Angiotensina. Los vasos mesentéricos del neonato tienen un número incrementado de receptores de Angiotensina II, y por tanto pueden ser susceptibles a disminución del flujo sanguíneo o a la isquemia, culminando con lesión de la mucosa intestinal. (11) Otros investigadores han atribuido este trastorno a la propia circulación intestinal del neonato y no a factores externos; demostrando que los mecanismos intrínsecos de control vascular que se encuentra en la pared del intestino son ineficaces y pueden contribuir a la lesión intestinal al limitar la vasodilatación como reacción a la isquemia. (12-14)

• Tyson y Coia, documentan que más del 50% de los neonatos que sometidos a cateterización de la arteria umbilical, tenían necrosis isquémica secundaria a embolias mesentéricas. (15) Se ha observado también ECN en neonatos que se han sometido a transfusiones de recambio, posiblemente porque las fluctuaciones del volumen sanguíneo durante el procedimiento, producen isquemia intestinal. Es posible que la isquemia intestinal cause la ECN que se observa en lactantes policitemicos, pues en ellos la viscosidad incrementada de la sangre produce estancamiento dentro de la microcirculación mesentérica. (16)

• En procesos sépticos y en presencia de Endotoxinas en vía sistémica, se ha demostrado un decremento en la capacidad de deformación de los eritrocitos, resultando un aumento en la viscosidad de la sangre a nivel de la microcirculación. En el neonato el aumento de la viscosidad de la sangre se traduce en fallo cardíaco, aumento de la resistencia pulmonar, disminución del flujo sanguíneo cerebral, alteración en la homeostasis de la glucosa, disminución de filtración glomerular y estancamiento de la circulación esplénica, esto último causando diversos grados de necrosis intestinal. (17)

• Cuando un tejido se ve sujeto a isquemia, se inicia una serie de reacciones químicas que pueden culminar en disfunción y necrosis celulares, por agotamiento de reservas energéticas de la célula y acumulación de metabolitos tóxicos en su interior. Es innegable que se requiere restablecer el flujo sanguíneo para reactivar los tejidos isquémicos puesto que esto permite la regeneración de la carga celular y eliminación de metabolitos tóxicos. (18) Sin embargo la reperusión de los tejidos isquémicos produce también una sucesión de reacciones que de manera paradójica los lesionan poniendo de manifiesto que el daño producido por reperusión puede ser más grave que el producido por el periodo de isquemia inicial. (19,20)

• La reperusión del intestino isquémico da por resultado lesión a nivel microvascular y de la célula parenquimatosa. La lesión por reperusión parece ser mediada tanto por metabolitos reactivos del oxígeno como por leucocitos polimorfonucleares activados. Durante el periodo de isquemia inicial, el Trifosfato de Adenosina (ATP) se ve degradado a Monofosfato de Adenosina (AMP) e Hipoxantina. En la reperusión, con la reintroducción del flujo sanguíneo y la presencia de Xantina Oxidasa (XO) la Hipoxantina es convertida a Xantina con producción simultánea de radicales libres; Anión Superóxido, Radical Hidroxilo, y Peróxido de Hidrógeno, siendo estos productos extremadamente tóxicos para la membrana celular, citosol y núcleo celulares; inhibiéndose en forma secundaria la producción y descarga de agentes proinflamatorios, promoviendo la adherencia y migración de los leucocitos polimorfonucleares, mediando la lesión microvascular de la barrera endotelial por descarga de proteasas. (21)

• Son entonces múltiples y complicados los mecanismos de producción de la isquemia intestinal, que se conjugan dentro de la patogénesis de la Enterocolitis Necrosante. El proceso puede abarcar prácticamente todo el tubo digestivo, pero las zonas más afectadas con mayor frecuencia son el ileon terminal y el colon proximal. El intestino suele estar distendido, y tiene una pared traslúcida muy delgada, con zonas de necrosis franca o hemorrágicas, estas pueden producirse en forma focal o difusa, predominando en el lado antimesentérico del intestino.

• Con frecuencia también se encuentran zonas de neumatosis intestinal, que se manifiesta como burbujas subserosas que pueden ser confluentes, con áreas de necrosis transmural o de perforación intestinal encontrándose habitualmente cerca de la unión ileocecal. El dato histológico más frecuente es la necrosis por coagulación (isquémica) que se observa en más del 75% de los casos. La necrosis se puede limitar a la mucosa o, en caso de enfermedad más extensa, ser transmural. Otros datos consisten en inflamación aguda o crónica, ulceración, edema, pseudomembranas, hemorragias, cambios de reparación y proliferación bacteriana o micótica. (22-24)

En forma convencional el manejo de estas entidades esta encaminado a:

- 1.-Mantener en reposo al tracto digestivo, perpetuando el ayuno y descomprimiendo el tubo gastrointestinal.
- 2.-Manejo del proceso séptico concomitante.
- 3.-Terapia hidroelectrolítica adecuada y apoyo con nutrición parenteral.
- 4.-Manejo de enfermedades concomitantes.
- 5.-Resolución quirúrgicas de complicaciones.

Medidas que se encuentran encaminadas a limitar el daño o evitar complicaciones, no deteniendo la evolución del daño tisular ya establecido. (25)

• En las últimas décadas, se ha implementado el uso de diferentes fármacos, que son utilizados en el tratamiento de enfermedades diferentes a la tratada, con la finalidad de disminuir el daño tisular causado por reperusión, secundario a un evento de isquemia. Actuando en el sustrato fisiopatológico de la lesión a nivel celular, limitando y/o revirtiendo el daño tisular establecido.

• La PENTOXIFILINA un derivado de la Metilxantina, relacionada con la Cafeína y la Teofilina, es descubierta en la década de 1950, pero introducida hasta el año de 1984, para el tratamiento de la enfermedad vascular periférica, claudicación intermitente, insuficiencia cerebrovascular, enfermedad isquémica miocárdica y más recientemente en forma experimental en la preservación de colgajos de piel. (26)

• El mecanismo de acción inicialmente descrito, se basa que al inhibir la acción de la Fosfodiesterasa, incrementa los niveles intracelulares de AMP cíclico, con la activación del sistema de Proteinkinasa que cataliza la fosforilación de las proteínas de membrana, desestabilizando la membrana celular, con ello aumenta las capacidades de filtración y deformación del eritrocito. Además de producir efectos vasodilatadores ampliamente conocidos, sobre el músculo liso vascular, terminaciones nerviosas adrenérgicas y sobre las células endoteliales. Produciendo ambos mecanismos, aumento del flujo sanguíneo a nivel de la microcirculación tisular. (27)

• En 1983, Sheetz, Wang y Kreutzer, postularon una explicación adicional sobre las propiedades hemorreológicas de la droga, basada en la desestabilización de la membrana celular de los Eritrocitos y Leucocitos Polimorfonucleares, (PMN) mencionando también que la Pentoxifilina incrementa la motilidad de los PMN, sugiriendo que el fármaco es un inmunorregulador. (28) En estudios realizados por Hill y Krause, demuestran que la Quimiotaxis de los PMN neonatales se ve incrementada con la adición de la Pentoxifilina, además de inhibir la activación granulocítica inducida por citoquinas, y promover un decremento en la síntesis de prostaglandinas y de la agregación plaquetaria. (29)

• Sullivan y Cois, demostraron que la producción de radicales libres (Anión Superóxido) por activación leucocitaria, se ve disminuida ante la presencia de Pentoxifilina, de igual manera se presenta inhibición del factor de necrosis tumoral producido por macrófagos. (28) Steintleiner y Lambert mencionan que la Pentoxifilina interviene en la modulación en el proceso de reparación peritoneal a través de múltiples efectos en la cascada de granulación, incluyendo un decremento en la respuesta granulocítica mediada por el daño tisular durante la fase aguda postraumática, mejorando la perfusión de las estructuras dañadas y aumentando la producción del factor activador plasminógeno, resultando en un incremento en la fibrinólisis. (30)

- Los efectos farmacológicos descritos han sido documentados en estudios experimentales en animales de laboratorio y/o en estudios *in Vitro*, siendo aplicados en el campo clínico en forma esporádica. No teniendo antecedentes de su aplicación directa, en el tratamiento de la lesión isquémica intestinal, que se observa en entidades nosológicas, como la Enfermedad Isquémica Intestinal o la Enterocolitis Necrosante.

- La dosis y la vía de administración de la Pentoxifilina implementada en estudios experimentales con animales de laboratorio, ha variado en cada uno de ellos:

- Waxman y Holmes (1987) en su estudio (en ratas) para valorar el efecto de la Pentoxifilina sobre la oxigenación tisular posterior a choque hipovolémico, utilizaron una dosis de 25 mg/kg por vía intravenosa en infusión durante el evento de choque. Alcanzando una concentración sérica de 25-30 mcg./ml (31)

- Steinleitner y Lambert (1990) utilizaron, en su estudio (en conejos) de prevención de adherencias postquirúrgicas con el uso de pentoxifilina, una dosis de 2.5 mg/kg./d. cada 12 horas, por vía subcutánea. Alcanzando una concentración sérica de 2.5-3 mcg/ml (30)

- Berkenboom y Unger (1991) en su estudio (en ratas) de prevención de daño vascular inducido por ciclosporina, utilizan una dosis de Pentoxifilina de 80 mg/kg. en forma intraperitoneal. Alcanzando una concentración sérica de 80-100 mcg/ml. (32)

- Krause y Maderazo (1991) en su experimento (en ratones) de modulación de la función de neutrofilos neonatales, con Pentoxifilina utilizan una dosis de 15 mg/kg./d. por vía subcutánea, alcanzando una concentración sérica de 15-20 mcg/ml. (28)

- Refsum y Norwood (1993) estudian (en ratas) los cambios de los potenciales de membrana celular, durante un evento de sepsis, utilizando Pentoxifilina a dosis de 20 mg/kg./d. manejando diferentes vías de administración; peritoneal, intravenosa o subcutánea, dependiendo de la situación especial de cada grupo de estudio. (27)

- La mayoría de los estudios experimentales de isquemia intestinal (en ratas) se han basado en el modelo estandarizado por Megison y Horton (1989) en donde se demuestra que la suspensión del flujo de la arteria mesenterica superior (AMS) y la ligadura de las arcadas colaterales, reproducen la lesión intestinal que se observa en forma secundaria a un choque hipovolémico o a una oclusión de la AMS. La aplicación de esta técnica, produce isquemia en el 75% del intestino delgado y ciego. (33)

• En estos estudios experimentales en animales se han identificado cambios patológicos mediante microscopía electrónica y métodos histoquímicos inmediatamente después de iniciarse la isquemia intestinal; los cambios al microscopio de luz son perceptibles después de 5-10 minutos.

• La isquemia total de una parte del intestino produce al principio necrosis e infiltración eosinofílica del epitelio mucoso superficial, la membrana basal y la lámina propia subyacente. Con el paso del tiempo, sobrevienen pérdida de la integridad capilar mucosa, flujo de líquido tisular y fibrina hacia el intersticio, y hemorragia hacia la mucosa y luz intestinal. En plazo de 12-24 horas, la mucosa y submucosa se encuentran infiltradas por células inflamatorias, y la mucosa ha adoptado un aspecto de fantasma con preservación de los contornos celulares. Entre 24-48 horas después de la isquemia total se intensifican el infiltrado inflamatorio y la hemorragia mucosa y submucosa. Los cambios necróticos producen desintegración y esfacelo de la mucosa, y dejan ulceraciones y áreas desnudas de submucosa. En los casos más avanzados, sobreviene necrosis de la capa muscular propia que pueden terminar en perforación.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

• Las consecuencias de la ISQUEMIA Intestinal, son devastadoras en el paciente pediátrico, incluyendo: perforación intestinal, peritonitis, sepsis y finalmente muerte. los paciente que logran sobrevivir al evento agudo cursan con malabsorción, secundaria a síndrome de intestino corto, destinados en algunos casos a depender de hiperalimentación intravenosa en forma permanente. Los pacientes de todos los grupos de edad pueden estar expuestos a presentar eventos de isquemia intestinal, en virtud a un amplio espectro de factores que pueden estar comprometiendo el flujo vascular a nivel esplácnico, en el neonato se puede sufrir una hipoperfusión mesentérica, como posible mecanismo de inicio de la Enterocolitis Necrosante. En niños mayores se puede presentar en forma de Enfermedad Isquémica Intestinal o ser secundario a Malrotación o Vólvulus Intestinal.

• En forma convencional, el manejo de estas entidades, esta encaminado a limitar el daño tisular iniciado, en forma indirecta con medidas generales de sostén, tratando de evitar las complicaciones quirúrgicas, pero sin actuar en el sustrato fisiopatológico de lesión.

• Actualmente de manera experimental, ciertos fármacos han modificado en forma dramática la evolución de la lesión tisular secundaria a isquemia, con acción a nivel celular e incluso molecular.

JUSTIFICACIÓN

• Si la introducción de la PENTOXIFILINA, en el manejo experimental de isquemia intestinal modifica la evolución natural de la enfermedad, al actuar a nivel del sustrato fisiopatológico de la lesión tisular. El trasladarlo al campo clínico, mejoraría la perspectiva de vida de los pacientes, al evitar las complicaciones y secuelas inherentes de esta patología. Acortando el tiempo de estancia intrahospitalaria y reduciría el costo económico destinado a esta entidad nosológica.

OBJETIVOS

GENERAL

- Valorar el efecto de la PENTOXIFILINA, en el manejo de la lesión tisular, secundaria a un evento de isquemia intestinal.

ESPECIFICOS

- Determinar por medio de microscopía, si la lesión tisular secundaria a un evento de isquemia intestinal se modifica con la administración de Pentoxifilina.
- Evaluar las características macroscópicas y microscópicas de la respuesta inflamatoria, del intestino sometido a un evento de isquemia manejado con Pentoxifilina.

HIPÓTESIS

HIPOTESIS DE NULIDAD

- La lesión tisular que se presenta en forma secundaria a un evento de isquemia intestinal, no se modifica con la administración de pentoxifilina.
- La respuesta inflamatoria y la formación de fibroplasia como parte de la fase de reparación de una lesión isquémica intestinal, no se modifica con la administración de pentoxifilina.

HIPOTESIS ALTERNA

- La lesión tisular que se presenta en forma secundaria a un evento de isquemia intestinal, es menor con la administración de Pentoxifilina.
- La respuesta inflamatoria y la formación de fibroplasia como parte de la fase de reparación de una lesión isquémica intestinal, es menor con la administración de Pentoxifilina.

SUJETOS, MATERIALES Y MÉTODOS

LUGAR DONDE SE REALIZO EL ESTUDIO

- Biotario de la División de Cirugía Experimental de la Unidad de Investigación, del Instituto Mexicano del Seguro Social, Centro Médico Nacional Siglo XXI.
- Departamento de Patología del Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI.

TIPO DE ESTUDIO

Prospectivo, Longitudinal, Comparativo, Experimental.

RECURSOS HUMANOS

Cirujano Pediatra, Responsable de la Investigación.
Médico Residente Tesista.
Médico Patólogo.
Médico Veterinario y Técnico Auxiliar.

RECURSOS MATERIALES

- Sala de operaciones.
- Ratas adultas cepa Sprague Dawley, 3-4 meses de edad, con peso de 300-400 gr. (45 ratas)
- Pentocidina, sol. inyectable.
- Instrumental Quirúrgico, Material de Sutura.
- Material de Curación, Insumos varios.
- Formol AL 10%.

GRUPOS DE ESTUDIO

P 1: 15 Ratas iniciaron manejo con PENTOXIFILINA, inmediatamente posterior al evento de isquemia intestinal, a dosis de 15 mg/kg./d. con administración de la dosis inicial por vía endovenosa, continuando posteriormente cada 12 horas por vía subcutánea, por espacio de 72 horas.

P 2: 15 Ratas iniciaron manejo, a base de PENTOXIFILINA, 72 horas previas al evento de isquemia intestinal. Con dosis de 15 mg/kg./d. cada 12 horas por vía parenteral. (subcutánea) Continuando con la misma medicación posterior a la cirugía, por espacio de 72 horas.

G C: 15 Ratas, Grupo Control, no reciben ninguna medicación ni antes o después del evento de isquemia intestinal.

- Todos los grupos suspendieron, la alimentación a sólidos, 72 horas previas a la realización del evento de isquemia intestinal, solo manteniéndose a base de líquidos (sol. Glucosada al 10%) a libre demanda, continuando con los mismos, posterior a la cirugía.

Todos los animales se sacrificaron a las 72 horas postquirúrgicas. Se observaron en este lapso de tiempo, el estado general y la condiciones abdominales del animal.

- La dosis de Pentoxifilina utilizada en nuestro estudio, fue de 15 mg/kg./dosis, alcanzando con la misma, una concentración sérica de 15-20 mcg/ml. Utilizando como vía de administración la subcutánea, ya que de utilizarse la vía intraperitoneal previo al modelo de isquemia intestinal, pudiese modificar las condiciones abdominales al punccionar por accidente las asas intestinales, y posterior a ésta, la absorción del medicamento se vería modificada por los cambios inflamatorios del peritoneo. La vía intravenosa solo se utilizará en el grupo P 2, (dosis única durante la cirugía) en el cual, se requieren niveles séricos adecuados de pentoxifilina inmediatamente después del inicio de la obliteración de flujo sanguíneo esplácnico.

MODELO DE ISQUEMIA INTESTINAL

• Antes de la realización de experimento en los grupos de estudio, se somete a 5 Ratas, a exploración quirúrgica, con la finalidad de conocer su anatomía y fisiología, para adquirir practica en el manejo de tejidos y técnica quirúrgica experimental. Se observan la evolución, efectos adversos y complicaciones transoperatorias. Este grupo no es incluido en los resultados finales del estudio, para evitar conclusiones tendenciosas.

PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO

• Todos los grupos se someten, a laparotomía, a través de una incisión media, eviscerando las asas intestinales. Se localiza la arteria mesentérica superior (AMS). A la cual se le ocluye el flujo sanguíneo, con la aplicación de pinza vascular, además de ligar con material de sutura (seda) las arcadas colaterales. Retirando la pinza vascular a los 20 min. de iniciado el periodo de isquemia intestinal. Durante el proceso quirúrgico se toman biopsias de la pared intestinal, 1.- Previo a la oclusión de la AMS. 2.- A los 18 minutos posterior al inicio de la oclusión del flujo sanguíneo. 3.- A los 30 minutos de la reperusión. Se reparan los sitios en donde se tomaron las biopsias con material de sutura absorbible (vicryl 4-0, 5-0) Al terminar el procedimiento se regresarán las asas intestinales a la cavidad abdominal, y se cierra la pared en un solo plano.

• En un segundo tiempo quirúrgico (72 horas posteriores al evento de isquemia) se realiza exploración quirúrgica, valorando las condiciones de la cavidad abdominal y de las asa Intestinales sometidas a isquemia. Se reseca en bloque el segmento intestinal sujeto a isquemia, con margen de 5 cm. a cada lado de los límites marcados. Tanto las biopsias tomadas durante el modelo de isquemia intestinal, y la pieza quirúrgica tomada en el segundo tiempo quirúrgico, se enviaron al Servicio de Patología para su estudio.

DEFINICION OPERATIVA DE VARIABLES

INFLAMACION

Presencia de Infiltrado Neutrofílico en el espesor de la pared intestinal.

*Leve: Menor de 50 por campo fuerte.

*Moderada: Entre 50 -100 por campo fuerte.

*Intensa: Mayor de 100 por campo fuerte.

FIBROPLASIA

Presencia de fibroblastos jóvenes en el espesor de la pared intestinal.

*Leve : Menor de 10 por campo fuerte.

*Moderada: Entre 10 y 50 por campo fuerte.

*Intensa: Mayor de 50 por campo campo fuerte.

PERTONITIS

Presencia de Fibrina y neutrofilos en la serosa.

*Leve: Nula o escasa Fibrina con neutrofilos en parches.

*Moderada: Material fibrinoso con edema de pared, acompañado de menos de 150 neutrofilos por campo fuerte.

*Intensa: Abundante Fibrina y neutrofilos en mas de 150 por campo fuerte.

RESULTADOS MACROSCOPICOS

- La valoración macroscópica de la reacción inflamatoria se efectuó durante la laparotomía realizada en las ratas que fallecieron entre las 36 y 72 horas junto con las que presentaron sobrevida por más de 72 horas, ya que las que fallecieron en etapas previas no tienen el periodo de tiempo suficiente para presentar cambios macroscópicos de respuesta de cicatrización peritoneal. Se evaluó la presencia de bridas postquirúrgicas clasificándose como laxas y fibrolaxas.
- Dentro del grupo G C la totalidad de los especímenes presentaron adherencias, 3 ratas (25%) con bridas laxas y 6 ratas (75%) con fibrolaxas. En los grupos en los que se maneja Pentoxifilina las adherencias postquirúrgicas se presentaron en menos proporción.
- En el grupo P1 5 ratas (50%) no presentaron adherencias, 4 ratas (40%) presentaron bridas laxas y 1 rata (10%) del tipo fibrolaxas.
- En el grupo P2 8 ratas (61.5%) no presentaron adherencias, 4 ratas (30.7%) presentaron bridas laxas y solo 1 rata (7.7%) adherencias fibrolaxas. (Gráfica 3)

EVALUACIÓN HISTOPATOLOGICA ISQUEMIA INTESTINAL

- Las tres biopsias de cada una de las 45 ratas muestreadas en diferentes tiempos (Previo a la oclusión de la vascular, a los 18 min. de iniciado el tiempo de isquemia y a los 30 min. posterior a la reperusión) durante la ligadura de la Arteria Mesentérica Superior y colaterales, fueron fijadas en Formol amortiguado al 10%, incluidas en parafina con cortes de 4 micras. Realizándose tinciones de rutina, hematoxilina y eosina, y tinción de Masson. La valoración histológica de las biopsias estuvo a cargo de un Médico Patólogo calificado, perteneciente al servicio de Patología, del Hospital de Pediatría, Centro Médico nacional. Siglo XXI. quien desconocía el tipo de manejo establecido en cada uno de los grupos de estudio.

Las lesiones isquémicas intestinales fueron graduadas con una escala de clasificación, (estandarizada por Chiu y Coia, 1970) con grados del 0-5. Siendo el grado de lesión más severo el no. 5. (Tabla 1 y Figuras 1-6)

- En el estudio histológico basal (tomado en el periodo pre isquémico) se reportaron las biopsias dentro del grado 0 de lesión tisular, siendo igual para todos los grupos de estudio.

- En el periodo isquémico (después de 18 minutos de isquemia) se reportaron cambios isquémicos importantes.

En el Grupo Control (CG) los rangos variaron entre los grados 2 y 4, siendo el valor de la mediana de 3.

En el grupo de ratas manejadas con pentoxifilina posterior al evento isquémico (P 1) el grado de lesión tisular fue semejante al del grupo control, con rangos entre 2 y 4, con una mediana de 3.

En el grupo de Ratas con manejo con Pentoxifilina, previo y posterior al evento de isquemia (P 2) se observó una disminución significativa de la lesión tisular, encontrándose los grados de lesión con rangos entre el 0 - 2, con mediana de 1, con una diferencia estadísticamente significativa. (valor de P de 0.000003.)

- En el Periodo de reperfusión (después de 30 minutos de reperfusión) se vio incrementado el grado de lesión tisular en el Grupo Control, reportándose una mediana de 4.

El grupo P1 se mantuvo prácticamente sin cambios en relación al periodo previo con una mediana de 3.

Dentro del grupo P2, no se observó incremento en el grado de lesión presentando una mediana de 1, con diferencia estadísticamente significativa. (valor de P 0.000005) (Tabla 2)

VALORACION HISTOLOGICA DE LA RESPUESTA DE REPARACIÓN

• De los especímenes en los que se valoraron los cambios macroscópicos, (8 ratas del grupo GC, 10 ratas del grupo P1, y 13 ratas de grupo P2) se obtuvieron muestras del sitio de toma de las biopsias, con la finalidad de valorar los cambios de la respuesta de reparación en los grupos manejados con Pentoxifilina. Se analizó en forma independiente la presencia de INFLAMACIÓN, FIBROPLASIA Y PERITONITIS.

INFLAMACIÓN

- En el grupo G C, se detectó un aumento considerable en la proliferación de células inflamatorias en comparación a los grupos con manejo de Pentoxifilina. Solo 1 rata (12.5%) se encontró con inflamación leve, 3 ratas (37.5%) con moderada y 4 ratas (50%) con grado intenso de inflamación.
- En el Grupo P1, 7 ratas (70%) se encontraron presentando inflamación leve, 2 ratas (20%) moderada y 1 rata (10%) con grado intenso de inflamación.
- En el grupo P2, 10 ratas (76.9%) presenta un grado leve de inflamación, 2 (15.38%) un grado moderado, y 1 rata (7.7%) con inflamación intensa. (Grafica 4 y Figuras 7-10)

FIBROPLASIA

- En el grupo GC se observó un aumento importante de proliferación fibroblástica en relación a los otros grupos, una sola rata (12.5%) presentó un grado leve de fibroplasia, 4 ratas (50%) moderado y 3 ratas (37.5%) fibroplasia intensa.
- En el grupo P1, 6 ratas (60%) presenta proliferación fibroblástica leve, 3 ratas el 30% con fibroplasia moderada, y 1 rata (10%) con fibroplasia intensa.
- En el grupo P2, 9 ratas (69.2%) presentaron una leve proliferación fibroblástica, 3 ratas (23%) una moderada y 1 rata (7.7%) fibroplasia intensa. (Gráfica 5 y Figuras 7-10)

PERITONITIS

- En el grupo GC, 2 ratas (25%) presentaron datos leves de peritonitis, otras 3 ratas (37.5%) la presentación fue en forma moderada y 3 ratas (37.5%) en forma intensa.
- En el grupo P1, 7 ratas (70%) presentaron peritonitis leve, 2 ratas (20%) un grado moderado y 1 rata (10%) peritonitis intensa.
- En el grupo P2 el porcentaje de peritonitis fue menor, 11 ratas (84%) presentaron datos leves de peritonitis y las restantes 2 ratas (26%) un grado moderado. (Gráfica 6)

DISCUSION

- En este estudio claramente se demuestra que el manejo con pentoxifilina, reduce en forma significativa, el grado de lesión tisular secundario a un evento de isquemia intestinal.
- En el grupo P2 con manejo de PTX en el periodo preoperatorio, el grado de lesión alcanzado durante la fase de isquemia, es bajo, una mediana de 1, en comparación con el grupo control que la presenta de 3. En la fase de reperfusión permanece con el mismo grado de lesión (mediana de 1) en comparación con el grupo control, que lo aumenta en forma considerable a 4. Demostrando que el uso de Pentoxifilina limita el daño isquémico inicial y protege al epitelio de la lesión por reperfusión.
- El grupo P1 que inicia la administración de pentoxifilina inmediatamente posterior al evento de isquemia, el grado de lesión a los 18 min. de isquemia es muy similar al del grupo control (mediana 3) pero durante la fase de reperfusión el grado de lesión no se ve incrementado, manteniéndose con una mediana de 3. Indicando con esto, que aun con poco tiempo de administración del medicamento se tiene efecto directo sobre la lesión establecida en la mucosa intestinal.
- Los probables mecanismos de acción son múltiples, principalmente la propiedad de tener efecto vasodilatador a nivel de lecho esplácnico y ser un medicamento hemorreológico que condicione el aumento de las capacidades de deformación y filtración eritrocitaria, se traduce en mejor flujo sanguíneo y mayor oxigenación a nivel tisular. Otro de los mecanismos propuestos es la capacidad de inhibir la formación de radicales libres (principalmente Anión Superóxido) secundarios a la activación leucocitaria, lo que disminuye el daño tisular secundario a la reperfusión.

- Durante la segunda fase del estudio se observó desde los resultados macroscópicos que la respuesta inflamatoria al daño isquémico tisular es menor en los grupos que manejaron pentoxifilina, presentando una disminución en la formación de bridas postquirúrgicas. En el estudio microscópico la presencia de la reacción inflamatoria, proliferación fibroblástica y peritonitis como parte de la fase de reparación, fue significativamente menor en los grupos P1 y P2 en comparación con el grupo control.

- Probablemente la Pentoxifilina interviene activamente en la fase de reparación peritoneal e intestinal secundario a isquemia, disminuyendo la respuesta granulocítica medida por el daño tisular en la fase aguda isquémica y aumentando la producción del factor activador plasminogénico lo que produce un aumento en la fibrinólisis, además de disminuir la proliferación fibroblástica a nivel tisular, lo que se traduciría en una mejor evolución de cicatrización de las lesiones.

- En la última década los conocimientos sobre los eventos fisiopatológicos locales y sistémicos de la isquemia intestinal han aumentado, dando lugar a que agentes farmacológicos como vasodilatadores mesentéricos selectivos, antagonistas de la angiotensina II, inhibidores de la prostaglandina y depreadores de radicales libres puedan modificar el daño tisular secundario a isquemia, y mejorar las perspectivas de vida y la integridad funcional del paciente.

- Tomando en cuenta los resultados obtenidos en este estudio, el uso de la pentoxifilina se debe de poner en consideración en el manejo coadyuvante de enfermedades como la enterocolitis necrosante, enfermedad isquémica intestinal o vólvulus intestinal, donde la lesión isquémica intestinal es el problema de fondo.

CONCLUSIONES

El manejo de Pentoxifilina previo al evento de isquemia intestinal, disminuye el grado de lesión de la mucosa, durante la fase inicial de isquemia.

La administración de pentoxifilina durante el evento de isquemia intestinal, evita que el grado de lesión de la mucosa se incremente durante la fase de reperfusión.

En los Grupos de estudio en los cuales se manejo la Pentoxifilina, la infiltración neutrofílica y la proliferación fibroblástica, fue menor durante la fase de reparación.

TABLAS

GRADOS DE LESIÓN ISQUEMICA INTESTINAL

Grado 0: Vellosidades normales.

Grado 1: Formación de un espacio subepitelial en la punta de las vellosidades.

Grado 2: Extensión del espacio subepitelial con moderada separación de la mucosa de la lámina propia.

Grado 3: Aumento de la separación del epitelio superficial de la lámina propia y disminución en el número de vellosidades, y ulceración de las mismas.

Grado 4: Denudación de las vellosidades, dilatación capilar, incremento de la celularidad de la lámina propia.

Grado 5: Desintegración de la lámina propia, ulceración hemorrágica.

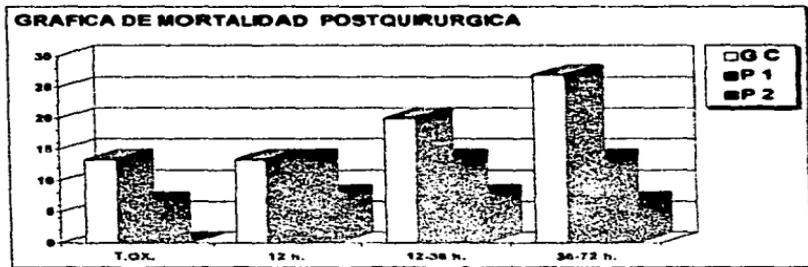
Tabla No. 1

GRADOS DE ISQUEMIA INTESTINAL COMPARACIÓN ENTRE LOS GRUPOS DE ESTUDIO

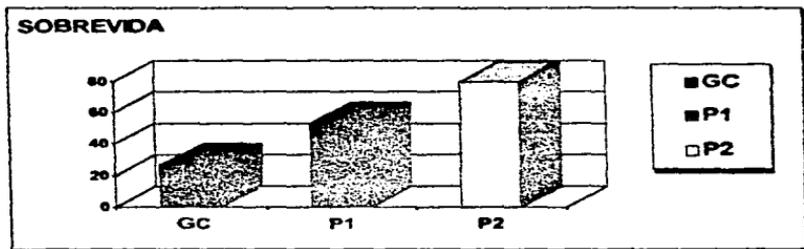
	GRUPO CONTROL	GRUPO P1	GRUPO P2	VALOR DE P.
BASAL	0	0	0	
ISQUEMIA	3	3	1	0.000003
REPERFUSION	4	3	1	0.000005

TABLA No. 2 NOTA: Valores de Mediana. Análisis estadístico completado con prueba estadística de Kruskal-Wallis.

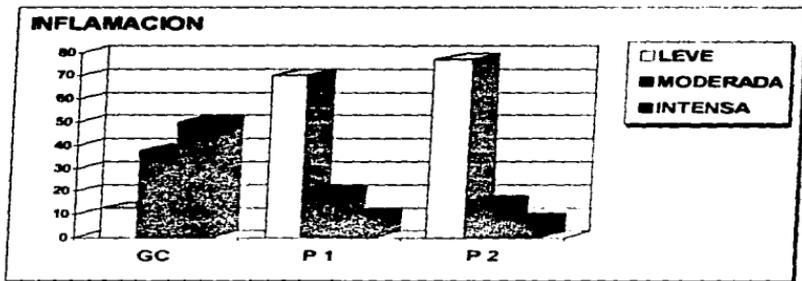
GRAFICAS



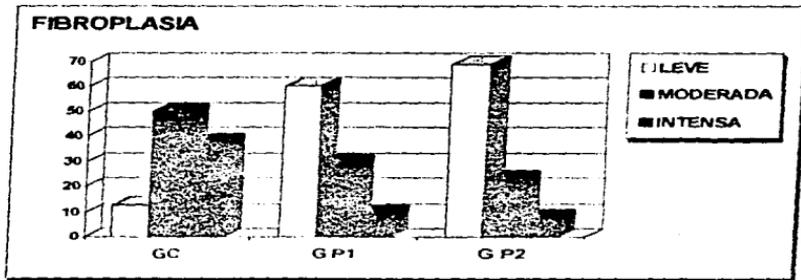
GRAFICA No. 1



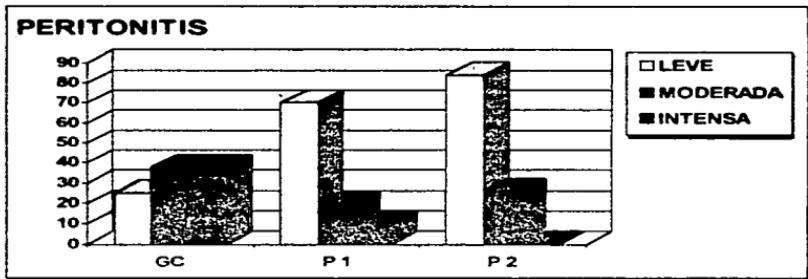
GRAFICA No. 2



GRAFICA No. 3



GRAFICA No.4



GRAFICA No. 5

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA



Figura no. 1 Microfotografía que mues -
tra el epitelio superficial intestinal sin
alteraciones. (Grado 0) HE. 40X



Figura no. 2 Microfotografía que mues -
tra leve y focal desprendimiento del epi -
lio superficial. (Grado 1) HE. 40X



Figura no. 3. Microfotografía de epite-
lio superficial con mayor desprendimiento,
formando hendiduras. (Grado 2) HE. 40X



Figura no. 4. Microfotografía que mues-
tra desprendimiento total del epitelio su-
perficial. (Grado 3) HE. 40X



Figura no. 5 Microfotografía que mues -
tra pérdida de la mucosa conservando par -
cialmente sus granúlas. (Grado 4)
HE. 40X



Figura no. 6 Microfotografía que mues -
tra erosión en todo el espesor de la muco -
sa. (Grado 5) HE. 40X

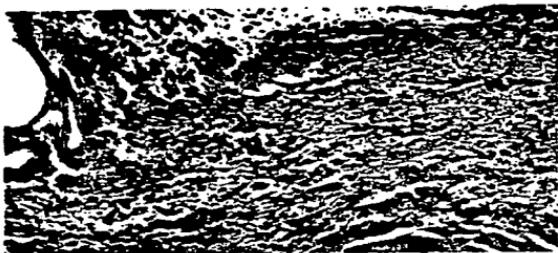


Figura no. 7 Microfotografía panorámica del sitio de toma de biopsia, que muestra intensa proliferación de fibroblastos e inflamación aguda. (En rata no tratada) HE. 10X



Figura no. 8 Microfotografía con acercamiento de la zona de toma de biopsias, que muestra proliferación de fibroblastos e inflamación aguda intensa. (En rata no tratada) HE. 40X

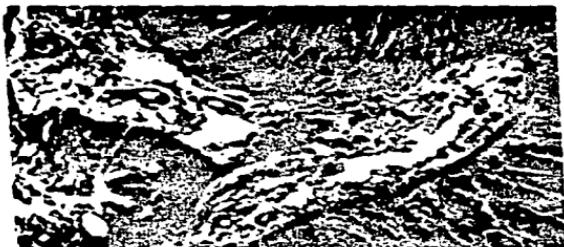


Figura no. 9 Microfotografía panorámica del sitio de toma de biopsias, que muestra leve infiltrado inflamatorio agudo y escasa proliferación de fibroblastos. (especimen tratado con Pentoxifilina) HE. 10X

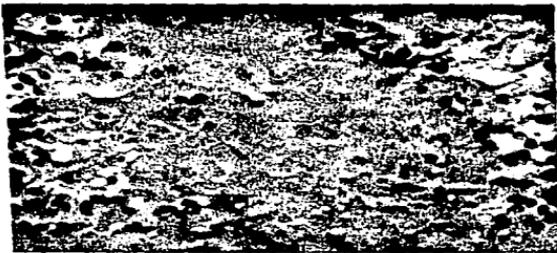


Figura no. 10 Microfotografía de acercamiento de la zona de toma de biopsia, que muestra escasa proliferación de fibroblastos y leve infiltrado neutrofílico. (rata tratada con Pentoxifilina) HE. 40x

BIBLIOGRAFIA

- 1.-Bell MJ, Temberg JL. Neonatal necrotizing enterocolitis: therapeutic decisions based upon clinical staging. *Ann.Surg.* 187:1-7, 1978.
- 2.-Santulli TV, Schullinger JN. Acute necrotizing enterocolitis in infancy: a review of 64 cases. *Pediatrics* 55:376-387, 1975.
- 3.-Kliegman RM, Fanaroff AA. Necrotizing enterocolitis. *N. Engl.J.Med.* 310:1093-1103, 1984.
- 4.-Herman RE. Perforation of the colon from necrotizing colitis in the newborn: Report of a survival and new etiologic concept. *Surgery* 58:438-440, 1964.
- 5.-Kliegman RM. Models of the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *J.Pediatr.* 117:52-55, 1990.
- 6.-Koloske AM. A unifying hypothesis for pathogenesis and prevention of necrotizing enterocolitis. *J.Pediatr.* 117:S68-S74, 1990.
- 7.-Chiu CJ, McArdle AH. Intestinal mucosal lesions in low flow states. Y: A morphological, hemodynamic and metabolic reappraisal. *Arch.Surg.* 101:478-483, 1970.
- 8.-Granger DN, Sennett M. Effect of local arterial hypotension on cat intestinal capillary permeability. *Gastroenterology* 79:474, 1980.
- 9.-Lloyd JR. The etiology of gastrointestinal perforations in the newborn. *J.Pediatr.Surg.* 4:77-84, 1969.
- 10.-Scholander PF. The master switch of life. *Sc.Am.* 209:92-105, 1963.
- 11.-Bailey RW. Pathogenesis of nonocclusive ischemic colitis. *Ann.Surg.* 203:580-599, 1986.
- 12.-Granger HJ, Shepherd AP. Intrinsic microvascular control of oxygen delivery. *Microvasc.Res.* 5:49-72, 1973.
- 13.-Edelstone DI, Hotzman JR. Fetal intestinal oxygen consumption at various levels of oxygenation. *Am. J.Physiol.* 242:H50H54, 1982.

- 14.-Edelstone DI. Hizman JR. Oxygen consumption by the gastrointestinal tract and liver in conscious newborn lambs. *Am.J.Physiol.* 240:6297-6304, 1981.
- 15.-Tyson JE. Dese DJ: Thromboatheromatous complications of umbilical arterial catheterization in the newborn period: Clinicopathological study. *Arch.Dis.Child.* 51:744-754, 1976.
- 16.-Touloukian RJ. Kadar A. The gastrointestinal complications of neonatal umbilical venous exchange transfusion: A clinical and experimental study. *Pediatrics* 51:36-43, 1973.
- 17.-Daniel L. Mollit The role of pentoxifylline in endotoxin-induced alterations of red cell deformability and whole blood viscosity in the neonate. *J.Pediatr.Surg.* 5:572-574, 1991.
- 18.-Parks DA. Shah AK. Oxygen radicals: effects on intestinal vascular permeability. *Am.J.Physiol.* 247:G167,1979
- 19.-Korthuis RJ. Smith JK. Hypoxic reperfusion attenuates postischemic microvascular injury. *Am.J.Physiol.* 256:H315,1989
- 20.-Parks DA. Granger DN. Contributions of ischemic and reperfusion to mucosal lesion formation. *Am.J.Physiol.* 250:G749,1986
- 21.-Stephen M.Megison. Prolonged survival and decreased mucosal injury after low-dose enteral Allopurinol prophylaxis in mesenteric ischemia. *J.Pediatr.Surg.* 8:917-921, 1990.
- 22.-Ballance WA. Dahms BB. Pathology of neonatal necrotizing enterocolitis: A ten year experience. *J.Pediatr.* 117:S6-S13, 1990.
- 23.-Bernierschke K. Pathology of neonatal enterocolitis. In *Necrotizing Enterocolitis in the newborn infant.* Columbus,Ohio. Ross Laboratories, 29-32 pp. 1975.
- 24.- Joshi VV. Kay S. Neonatal necrotizing enterocolitis: Histologic evidence of healing. *Am.J.Dis.Child.* 126:113-116, 1973.
- 25.-Bell MJ. Temberg JL. Neonatal necrotizing enterocolitis: Therapeutic decisions based upon clinical staging. *Ann.Surg.* 187:1-7,1978.

- 26.-Ganser V. Effect of pentoxifylline on cerebral oedema in cats. *Neurology*
24:487-493,1974.
- 27.-Refsum S.E. Norwood BJ. Pentoxifylline improves resting Membrane
potential in sepsis. *J.Pediatr.Surg.* 28:1144-1146, 1993.
- 28.-Peter J.Krause. Eufonio G.Mederazo. Modulation of neonatal neutrophil
function by Pentoxifylline. *Pediatr.Res.* 29:123-127, 1991.
- 29.-Hill HR. Newton JA. Correction of a developmental defect in neutrophil
activation and movement. *Am.J.Pathol.* 128:307-314, 1987.
- 30.-Steinleitner A. Lambert H Pentoxifylline, a Methylxantine derivative,
prevents postquirurgical adhesion reformation in rabbits. *Obstet.Gynecol.*
6:926-928, 1990.
- 31.-Waxman K. Holness R. Pentoxifylline improves tissue oxygenation after
hemorrhagic shock. *Surgery* 2:358-360, 1987.
- 32.-Berkenboom G. Unger P. Prevention of Cyclosporine A-Induced
Vascular toxicity by pentoxifylline. *J.Cardiovasc.Pharmacol.* 5:761-768, 1991.
- 33.-Megison SM. Horton JW. A new model for intestinal ischemia in rat.
J.Surg.Res. 49:168-173, 1990.