



Universidad de Valladolid

FACULTAD DE MEDICINA

**DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA, OFTALMOLOGÍA,
OTORRINOLARINGOLOGÍA Y FISIOTERAPIA**

TESIS DOCTORAL:

**ESTUDIO MORFOMÉTRICO DE LA ACCIÓN DEL ÁCIDO
ACETILSALICÍLICO Y CLOPIDOGREL EN EL INTESTINO
DELGADO DE UN MODELO EXPERIMENTAL DE
ISQUEMIA-REPERFUSIÓN.**

Presentada por M^a Antonia Montenegro
Martín para optar al grado de
doctora por la Universidad de Valladolid

Dirigida por:

Prof. Dr. D. Carlos Vaquero Puerta
Dr. D. Juan Carlos Martín del Olmo

AGRADECIMIENTOS

Al Prof. Dr. **Carlos Vaquero Puerta** por su estimable apoyo y dirección de este trabajo.

Al Dr. **Juan Carlos Martín del Olmo** por su desmedida perseverancia y ayuda tanto a nivel profesional como en la dirección de este trabajo.

Al Prof. Dr. **Pedro Gago Romón** por trasmitirme su entrañable dedicación a la Medicina y a la Cirugía, y por su excelente labor como docente.

A Dña. **M^a Fe Muñoz Moreno** por su constante colaboración y ayuda en el estudio estadístico.

A Dña. **María Victoria Valdivieso Rodríguez** por su apreciado trabajo en el procesamiento técnico de las piezas histológicas.

A Dña. **Sara González Calvo** por su incesante tarea en la obtención de la bibliografía revisada.

A mi hermano, D. **Sergio Montenegro Martín**, por sus fructíferos consejos y su apoyo tenaz para lograr alcanzar mis objetivos.

A todas aquellas personas, familiares, amigos, compañeros de trabajo, que directa o indirectamente me habías apoyado y ayudado durante la realización de este trabajo.

***A mis padres, José Antonio y Tere,
Y a mi marido, César,
Con un cariño especial
Por su ánimo constante y apoyo ilimitado.***

INDICE

1. Introducción	- 1 -
1. 1 Recuerdo embriológico, anatómico, estructural e histológico intestinal-	4 -
1.1.1 Características embriológicas	- 4 -
1.1.2 Características anatómicas	- 5 -
1.1.3 Vasos y nervios del intestino delgado	- 8 -
1.1.4 Características histológicas del intestino delgado	- 15 -
1.2 Fisiopatología intestinal: isquemia-reperfusión	- 22 -
1.2.1 Fisiología intestinal	- 22 -
1.2.1A Flujo sanguíneo gastrointestinal, la circulación esplácnica	- 22 -
1.2.1B Anatomía del riego sanguíneo intestinal	- 23 -
1.2.1C Efecto de la actividad intestinal y factores metabólicos en el flujo gastrointestinal.....	- 24 -
1.2.1D Regulación del flujo sanguíneo gastrointestinal.....	- 26 -
1.2.2 Isquemia intestinal	- 29 -
1.2.2A Definición	- 29 -
1.2.2B Fisiopatología	- 29 -
1.2.2C Epidemiología	- 31 -
1.2.2D Clasificación de isquemia mesentérica	- 31 -
1.2.2E Etiología de isquemia mesentérica aguda	- 32 -
1.2.2F Clínica de la isquemia intestinal aguda.....	- 33 -
1.2.3 Fisiopatología de la isquemia-reperfusión intestinal (IRI)	- 38 -
1.2.4 Mediadores de la isquemia-reperfusión intestinal	- 40 -
1.2.5 Estrategias de protección frente a la isquemia-reperfusión intestinal-	49 -
1.2.6 Histología de la isquemia-reperfusión intestinal	- 54 -
1.2.6A Lesiones debidas a la isquemia.....	- 54 -
1.2.6B Lesiones debidas a la reperfusión.....	- 60 -
1.3 Modelo experimental.....	- 65 -
1.3.1 Características anatómica de la rata	- 65 -
1.3.2 Características histológicas de la rata.....	- 65 -
1.3.3 Supervivencia de la rata a la isquemia intestinal	- 67 -

1.4 Ácido acetilsalicílico (Inyesprin®)	- 69 -
1.4.1 Ficha Técnica.....	- 73 -
1.5 Clopidogrel.....	- 74 -
1.5.1 Ficha Técnica.....	- 79 -
2. Hipótesis de trabajo	- 91 -
3. Objetivos	- 95 -
3.1 Objetivo principal	- 95 -
3.2 Objetivos específicos	- 95 -
4. Material y métodos	- 99 -
4.1 Animales	- 99 -
4.2 Protocolo experimental.....	- 101 -
4.2.1 Técnica anestésica	- 101 -
4.2.2 Técnica quirúrgica.....	- 101 -
4.3 Estudio histopatológico.....	- 103 -
4.3.1 Preparación de muestras histológicas.....	- 103 -
4.3.2 Fijación.....	- 103 -
4.3.3 Lavado	- 103 -
4.3.4 Deshidratación.....	- 103 -
4.3.5 Inclusión en parafina.....	- 104 -
4.3.6 Formación de bloques y montaje en portaobjetos.....	- 104 -
4.3.7 Desparafinación de los cortes.....	- 105 -
4.3.8 Tinción con hematoxilina eosina.....	- 105 -
4.3.9 Aclaramiento y montaje.....	- 106 -
4.3.10 Morfometría.....	- 107 -
4.4 Análisis estadístico.....	- 112 -
4.5 Principios y normas de experimentación animal.....	- 113 -
5. Resultados	- 117 -
5.1 Mortalidad	- 117 -
5.2 Altura de la vellosidad.....	- 118 -
5.3 Anchura de la vellosidad	- 126 -
5.4 Grosor total de la pared.....	- 134 -
5.5 Profundidad de las criptas.....	- 142 -
5.6 Daño histológico de la mucosa	- 150 -
6. Discusión	- 163 -

6. 1	Discusión del modelo experimental.....	- 163 -
6.1.1	Justificación del modelo isquemia-reperfusión	- 163 -
6.1.2	Justificación del animal de experimentación	- 164 -
6.1.3	Justificación de la sustancia a estudiar	- 164 -
6.1.4	Justificación de la técnica microscópica.....	- 168 -
6.2	Discusión de los resultados	- 169 -
6.2.1	Altura de la vellosidad	- 171 -
6.2.2	Anchura de la vellosidad.....	- 173 -
6.2.3	Grosor total de la pared	- 173 -
6.2.4	Profundidad de las criptas	- 175 -
6.2.5	Daño histológico.....	- 176 -
6.3	Futuros estudios	- 177 -
7.	Conclusiones.....	- 181 -
8.	Bibliografía	- 185 -

INTRODUCCIÓN

1. Introducción

La isquemia intestinal no ha tenido una dedicación especial a lo largo de la historia de la medicina debido fundamentalmente a la alta mortalidad de la enfermedad y a la escasa incidencia en pacientes jóvenes. Las primeras intervenciones realizadas con éxito se describen en los años cincuenta y una significativa precisión en la aproximación diagnóstica del paciente no se alcanzará hasta los años 80.

El estudio de la isquemia mesentérica aguda en animales se remonta a los trabajos que Virchow y Litten, en 1875 ⁽¹⁾, realizaron en perros con el fin de poder observar las modificaciones producidas en el intestino tras la interrupción brusca del flujo de la arteria mesentérica superior. Desde entonces se han utilizado diversos modelos experimentales en animales para estudiar los factores que condicionan la evolución de las lesiones producidas por la isquemia mesentérica aguda. Tras observar en la clínica que los primeros intentos de recanalización de los vasos mesentéricos obstruidos se acompañaban de un empeoramiento del cuadro general (lo que ha venido a denominarse “síndrome de revascularización intestinal”), estos modelos animales se han vuelto a utilizar para el estudio de la fisiopatología de este proceso.

En 1906, Bernard Shaw publicaba *The Doctor's Dilemma* y aplicaba la teoría de la autointoxicación en el asa estrangulada como mecanismo fisiopatológico letal. Desde esta publicación se necesitarían más de 50 años para relacionar el “shock irreversible” de los pacientes que presentaban oclusión vascular mesentérica y la absorción de toxinas bacterianas a través del intestino necrosado del enfermo.

En 1930, Cokkinis destacó que “la oclusión de los vasos mesentéricos se considera unas de esas condiciones en las cuales el diagnóstico no es posible, el pronóstico es desesperado y el tratamiento casi inútil”. Los síntomas son inespecíficos inicialmente y por tanto el diagnóstico y el

tratamiento se retrasan a menudo hasta que la enfermedad está avanzada (2).

Afortunadamente, desde 1930, muchos avances (por ejemplo la imagen de resonancia magnética y la flujometría doppler) han permitido hacer un diagnóstico y tratamiento temprano (3).

En cambio el pronóstico permanece grave para pacientes en los cuales el diagnóstico se retrasa hasta la aparición de infarto intestinal (4).

Las opciones de tratamiento para la trombosis aguda centrada en métodos quirúrgicos han cambiado poco desde el siglo 20. Algunos pacientes pueden ser buenos candidatos para angioplastia percutánea transluminal con la colocación de stents (5-10). Otra alternativa sería la terapia trombolítica si los pacientes no llevan más de 8 horas de presentación de los síntomas y no tienen signos de peritonitis ni necrosis intestinal (11).

El tratamiento ha consistido tradicionalmente en el manejo quirúrgico. Sin embargo, la revascularización con métodos endovasculares, sin necesidad de resección, se han notificado cada vez más en múltiples series de casos que describen el éxito con la terapia endovascular, realizando dicho procedimiento cuando la enfermedad se diagnostica de forma temprana y no hay necrosis intestinal transmural. Se suele asociar con disminución de la mortalidad. Una opción alternativa sería el híbrido de cirugía abierta y tratamiento endovascular que minimiza la agresión quirúrgica a estos pacientes, que con frecuencia presentan edad avanzada.

En un estudio reciente, se ha demostrado una disminución de la mortalidad global y un aumento de la supervivencia al aplicar radiología vascular intervencionista para tratar a pacientes con isquemia mesentérica aguda sin irritación peritoneal (12).

La clave para el éxito del tratamiento de la isquemia mesentérica aguda y así, cambiar el pronóstico sombrío de esta patología, implica el

reconocimiento clínico temprano basado en una historia clínica detallada y un examen físico, junto con la evaluación de factores de riesgo que contribuyen, así como la rápida realización de pruebas diagnósticas apropiadas para confirmar el diagnóstico y la intervención temprana para corregir la anomalía subyacente ⁽¹³⁾.

La isquemia avanzada con infarto intestinal al diagnóstico y marcadores de aterosclerosis generalizada son predictores de pobres resultados.

Por otro lado, se ha ido investigando y conociendo que las lesiones que se producen durante la isquemia se agravan como consecuencia de la reperfusión.

El ácido acetilsalicílico (AAS) y el clopidogrel son fármacos antiagregantes que se han utilizado ampliamente en territorios anatómicos que han sufrido episodios de isquemia (por ejemplo tras infarto agudo de miocardio o tras accidente isquémico cerebral) y presentan buenos resultados en la prevención secundaria.

El estudio de investigación realizado en el que se ha administrado AAS y clopidogrel pretende evaluar los efectos beneficios de estos fármacos a nivel de la mucosa intestinal tras la isquemia-reperfusión. Los resultados analizan diversos aspectos morfométricos de la mucosa intestinal.

1. 1 Recuerdo embriológico, anatómico, estructural e histológico intestinal

1.1.1 Características embriológicas ⁽¹⁴⁾

El plegamiento céfalocaudal y lateral del embrión hace que una porción de la cavidad del saco vitelino revestida por endodermo se incorpore al embrión para formar el intestino primitivo, el cual se puede dividir en cuatro partes:

- Intestino faríngeo: que se extiende desde la membrana bucofaríngea hasta el divertículo respiratorio.
- Intestino anterior: se dispone caudalmente respecto del tubo faríngeo y se extiende hasta la evaginación del hígado.
- Intestino medio: se inicia en posición caudal respecto de la yema hepática y se extiende hasta el punto de unión de las dos terceras partes derechas del colon transversal con la tercera parte izquierda del mismo en el adulto.
- Intestino posterior: se extiende desde la tercera parte izquierda del colon transversal hasta la membrana cloacal.

Duodeno

La parte terminal del intestino anterior y la parte cefálica del intestino medio forman el duodeno. La unión de las dos partes es directamente distal al origen de la yema hepática. Como el estómago rota, el duodeno adopta la forma de C y gira hacia la derecha. Esta rotación, conjuntamente con el rápido crecimiento de la cabeza del páncreas, desplaza al duodeno de su posición inicial en la línea media al lado izquierdo de la cavidad abdominal. El duodeno y la cabeza del páncreas presionan contra la pared dorsal del cuerpo, y la superficie derecha del mesoduodeno dorsal se fusiona con el peritoneo adyacente. Por lo tanto, ambos planos desaparecen, y el duodeno y la cabeza del páncreas pasan a estar fijos en una posición retroperitoneal.

El páncreas completo obtiene una posición retroperitoneal a partir de entonces. El mesoduodeno dorsal desaparece completamente excepto en la región del píloro, donde una pequeña porción de duodeno (bulbo duodenal) conserva su mesenterio y sigue siendo intraperitoneal.

Durante el segundo mes, se oblitera la luz del duodeno por la proliferación de las células de sus paredes. Sin embargo, la luz es recanalizada muy poco después. Como el intestino anterior es irrigado por el tronco celíaco y el intestino medio por la arteria mesentérica superior, el duodeno es irrigado por ramas de ambas arterias.

Intestino medio

En el embrión de cinco semanas, el intestino medio está suspendido de la pared abdominal dorsal a través de un mesenterio corto y se comunica con el saco vitelino a través del conducto vitelino o conducto umbilical. En el adulto, el intestino medio empieza en la parte directamente distal respecto del punto donde el conducto colédoco entra dentro del duodeno. En toda su longitud, el intestino medio recibe la irrigación de la arteria mesentérica superior.

El desarrollo del intestino medio se caracteriza por la rápida elongación del intestino y su mesenterio, lo que forma el asa intestinal primaria. Por su ápice, el asa se conecta con el saco vitelino a través del estrecho conducto vitelino. La rama cefálica del asa se desarrolla y forma la parte distal del duodeno, el yeyuno y parte del íleon. La rama caudal se transforma en la porción inferior del íleon, el ciego, el apéndice, el colon ascendente y los dos tercios proximales del colon transversal.

1.1.2 Características anatómicas ^(15, 16)

El intestino delgado es un segmento del tubo digestivo que mide aproximadamente entre 4 y 7 m de longitud. Es más o menos cilíndrico y se extiende desde el píloro hasta la válvula ileocecal. Está constituido por tres

partes: el duodeno, el yeyuno y el íleon, aunque a nivel práctico se distinguen dos partes principales: una relativamente fija, el duodeno, y otra móvil, el yeyunoíleon.

Duodeno

Comienza en el píloro y su origen está indicado por el surco duodenopilórico. Termina formando con la parte móvil del intestino delgado un ángulo llamado ángulo duodenoyeyunal. La longitud del mismo es de 25 cm. Su calibre es irregular y su diámetro mide, según la región, de 3 a 4 cm.

Se puede dividir en cuatro porciones:

- Primer porción o porción subhepática: la cara anterior es intraperitoneal, pero la cara posterior presenta dos segmentos, uno interno, intraperitoneal y otro externo, extraperitoneal, siendo el límite entre estos dos segmentos el que corresponde al borde interno de la arteria gastroduodenal.
- Segunda porción o porción descendente o prerrenal: su cara anterior está cruzada por el colon transversal y por su meso, y produce en el lóbulo derecho del hígado la impresión duodenal. Su cara posterior se aplica sobre la vena cava inferior y sobre la arteria espermática derecha, el pedículo renal derecho y el uréter y el riñón; separada de estos órganos por la fascia de Treitz. La cara externa está en relación con el colon transversal, el hígado y el colon ascendente. La cara interna está unida a la cabeza del páncreas y recibe al conducto colédoco y a los conductos de Wirsung y Santorini, siendo cruzada por la arteria pancreatoduodenal superior anterior.
- Tercera porción o porción horizontal: los vasos mesentéricos superiores, rodeados por los elementos del grupo central de ganglios mesentéricos superiores, discurren entre las hojas del mesenterio por

delante de la tercera porción del duodeno. La arteria cólica derecha nace por delante de esta parte del duodeno.

- Cuarta porción o porción ascendente: su cara externa está más o menos cercana al borde interno del riñón izquierdo. Entre estos dos órganos, asciende el arco vascular de Treitz, formado por la vena mesentérica inferior y la arteria cólica izquierda. La extremidad superior de la cuarta porción del duodeno se une al yeyunoíleon por el ángulo duodenoyeyunal. Éste se une al pilar izquierdo del diafragma por un haz de fibras musculares lisas conocidas con el nombre de músculo de Treitz, por lo que constituye la parte más fija del duodeno.

Yeyunoíleon

Se extiende desde el duodeno al intestino grueso. Comienza en el ángulo duodenoyeyunal y termina en la unión ileocecal. A pesar de ser dos partes distintas, sin embargo no tienen un límite anatómico preciso sino más bien existe un cambio gradual en cuanto a las características anatómicas del yeyuno e íleon. Arbitrariamente, se considera que el yeyuno corresponde a las dos quintas partes iniciales y el íleon a las tres quintas partes distales.

Con respecto a las diferencias anatómicas se puede decir que el yeyuno tiene un diámetro mayor, una mayor cantidad de válvulas conniventes –que prácticamente desaparecen en el íleon terminal-, un mesenterio más fino y con menor cantidad de grasa y una mayor vascularización que el íleon.

Desde su origen a su terminación, el yeyunoíleon describe alrededor de 15 a 16 grandes flexuosidades llamadas asas intestinales. Cada una de ellas tiene forma de U, cuyas ramas son más o menos paralelas y están en contacto una con otra. Las asas están dispuestas según un modo más o menos constante desde el tercer mes de vida embrionaria. Se reconocen dos grupos principales de asas intestinales: un grupo superior izquierdo, formado por asas horizontales, situadas una debajo de otra, y un grupo inferior derecho, formado por asas verticales yuxtapuestas de izquierda a

derecha y de adelante hacia atrás. Esta porción del intestino presenta, en cerca del 2% de los casos, un poco por arriba del ciego, un divertículo en fondo de saco llamado divertículo de Meckel, que es un vestigio del conducto vitelino. Está habitualmente libre, pero puede estar unido por su vértice a la pared, directamente o por medio de un cordón fibroso.

El yeyuno y el íleon se localizan en su totalidad en la cavidad peritoneal, suspendidos en el meso del yeyunoíleon -que se denomina mesenterio-, por lo que son móviles. El mesenterio está formado por dos hojas de peritoneo entre las que discurren vasos sanguíneos que van a irrigar el intestino delgado, vasos linfáticos y ganglios, nervios y tejido adiposo que es más abundante en el íleon que en el yeyuno. La raíz del mesenterio se extiende de izquierda a derecha y de arriba hacia abajo por toda la pared posterior del abdomen desde el lado izquierdo de la segunda vértebra lumbar hasta la fosa iliaca derecha.

1.1.3 Vasos y nervios del intestino delgado ^(15, 17)

Duodeno

Las arterias del duodeno son:

- Arterias pancreaticoduodenales superiores anterior y posterior, ramas de la gastroduodenal.
- Arteria pancreaticoduodenal inferior, rama de la mesentérica superior. Se divide cerca de su origen en dos ramas, una anterior y otra posterior, que se anastomosan en las caras anterior y posterior del páncreas con las pancreaticoduodenales superiores anterior y posterior.
- Arteria primera intestinal, la arteria yeyunal, rama de la mesentérica superior.

El bulbo duodenal recibe, además, una arteria supraduodenal, rama de la hepática propia o de la gastroduodenal y una arteria subpilórica, que nace frecuentemente de la gastroepiploica derecha, o rara vez de la pancreatoduodenal superior anterior.

Las venas son, de una manera general, satélites de las arterias, y forman en sus anastomosis arcos semejantes a los arcos arteriales. Sin embargo, su terminación presenta algunas particularidades.

- La vena pancreaticoduodenal superior posterior desemboca en el tronco de la vena porta.
- La vena pancreaticoduodenal inferior anterior se aleja de su arteria en la cara anterior del páncreas y se vierte, junto con la vena gastroepiploica derecha en la mesentérica superior.
- La vena pancreaticoduodenal inferior posterior termina también en la mesentérica superior.

Los linfáticos del duodeno se vierten en los ganglios pancreaticoduodenales superiores e inferiores. Sin embargo, la primera porción del duodeno es también tributaria de nódulos linfáticos subpilóricos y la cuarta porción envía algunos linfáticos a un ganglio pancreático inferior cercano al ángulo duodenoyeyunal.

Los nervios proceden especialmente del vago izquierdo para la primera porción del duodeno, del ganglio celíaco derecho y del plexo mesentérico superior para la segunda y tercera porción y finalmente del vago derecho y del ganglio celíaco izquierdo para la cuarta porción, la última parte de la tercera porción y el ángulo duodenoyeyunal.

Yeyunoíleon

Las arterias del yeyunoíleon son las ramas intestinales de la arteria mesentérica superior.

Las venas están dispuestas como las arterias y desembocan en la vena mesentérica superior.

Los linfáticos que salen de la pared del yeyunoíleon son los vasos quilíferos de Asellius. Se dirigen directamente a los nódulos linfáticos del grupo yuxtaintestinal o a los del grupo intermedio. Estos dos grupos comunican entre sí y con el grupo central, del cual los eferentes conducen finalmente la linfa del yeyunoíleon hacia el tronco lumbar izquierdo o hacia la cisterna de Pecquet, en parte directamente por medio de varios colectores llamados troncos intestinales y también por medio de ganglios preaórticos y lateroaórticos izquierdos próximos al pedículo renal.

Los nervios proceden del plexo celiaco por medio del plexo mesentérico superior.

Arteria mesentérica superior ⁽¹⁵⁾

Irriga una parte del páncreas, el intestino delgado y la mitad derecha del intestino grueso. Nace de la cara anterior de la aorta, a un centímetro (cm) aproximadamente por debajo del tronco celíaco, a la altura del borde superior de la primera vértebra lumbar o del disco que separa ésta de la duodécima torácica.

Ramas colaterales:

Además de algunas ramas muy delgadas destinadas a los ganglios del plexo celíaco y a la parte vecina del páncreas, la arteria mesentérica superior da origen a las siguientes ramas colaterales:

- Arteria pancreatoduodenal inferior. Se origina cerca del origen de la arteria mesentérica superior. Suele ser la primera rama de la arteria o bien compartir el nivel de origen con la primera rama yeyunal. Teniendo en cuenta que el sitio de origen de la arteria pancreatoduodenal inferior es el punto eje de la rotación del intestino embrionario, hay mucha variabilidad del origen de dicha arteria,

originándose unas veces directamente de la primera rama yeyunal y otras de forma independiente. Se divide en dos ramas: una posterior y otra anterior. Se anastomosan con las pancreatoduodenales superiores anterior y posterior, ramas de la gastroduodenal. Una de sus ramificaciones se dirige hacia la izquierda, a lo largo de la cuarta porción del duodeno y se anastomosa con la primera arteria yeyunal.

- Arteria pancreática inferior. Nace de la mesentérica superior cuando ésta se separa de la cara posterior de la glándula.
- Arterias yeyunales e ileales (intestinales). En número de 12 a 15, estas ramas nacen del borde izquierdo de la arteria mesentérica superior y se introducen en el espesor del mesenterio hacia el intestino delgado. Las arterias intestinales más superiores son más gruesas que las inferiores. Cada una de ellas se bifurca a cierta distancia del intestino, y las dos ramas resultantes se anastomosan boca a boca con las ramas de las arterias vecinas. Se forma así, en toda la longitud del intestino una primera serie de arcos de convexidad intestinal. De la convexidad de estos arcos parten nuevas ramas que se dividen a su vez y se anastomosan como las primeras por medio de una segunda serie de arcos, los cuales dan nacimiento a un gran número de ramas, que constituyen una tercera serie de arcos. Se forman en general tres series de arcos, raramente cuatro o cinco. Sin embargo, sólo existe una fila de arcos en las dos extremidades del yeyunoíleon.

De la última serie de arcos, llamada vasos paralelos, parten unas ramificaciones que van directamente al borde adherente del intestino: son los vasos rectos. Cada vaso recto se divide en dos ramas, una derecha y otra izquierda, que se ramifican en la cara correspondiente del asa intestinal. La división se realiza a una distancia considerable del intestino, a veces se produce en el origen mismo del vaso recto.

Frecuentemente, por último, las ramas anterior y posterior nacen separadamente de los vasos paralelos.

Las ramas anterior y posterior de los vasos rectos discurren en principio bajo la serosa formando plexos, atraviesan después la muscular y terminan en la submucosa. En su trayecto intraparietal, dan colaterales que se anastomosan con las colaterales de las ramas vecinas cerca del borde libre del intestino. Se dividen, en la submucosa, en dos ramas terminales que divergen y se anastomosan con las ramas semejantes de arterias vecinas. Así se forma una serie de asas arteriales que constituyen en cada cara del intestino una serie de arcos longitudinales de donde parten finos ramos que se anastomosan en red sobre el borde libre. Desde los plexos de la submucosa parten una o dos arteriolas que se dirigen hacia el vértice de la vellosidad y en su trayecto se arborizan en una redcilla capilar subepitelial, muy abundante en cada vellosidad. En las vellosidades los capilares aferentes y eferentes forman anastomosis arteriovenosas a lo largo de todo el eje de la vellosidad^{18, 19}.

La primera arteria yeyunal se bifurca en una rama derecha que se anastomosa con la pancreatoduodenal inferior y otra izquierda que se anastomosa con la segunda arteria yeyunal.

- Arteria cólica derecha (arteria cólica derecha superior o arteria del ángulo cólico derecho). De las dos ramas terminales, la ascendente o izquierda se anastomosa en el mesocolon transversal con una rama de la cólica izquierda y constituye con ella el arco de Riolo. La otra descendente, forma un arco anastomótico con la arteria cólica derecha media del colon o con la rama cólica de la arteria ileocólica.
- Arteria cólica media. Esta rama se desprende en general directamente del tronco de la arteria mesentérica superior en las proximidades del origen de la arteria cólica derecha. Desciende en el

espesor del mesocolon hacia la parte media del colon transversal y se anastomosa con el arco de Riolo.

- Arteria cólica derecha media o arteria del colon ascendente. Es inconstante. Nace unas veces del tronco de la arteria mesentérica superior y otras de la arteria ileocólica. Se divide en las proximidades del colon ascendente en dos ramas, una ascendente y otra descendente, que se anastomosan con la rama descendente de la cólica derecha superiormente, y con la rama ascendente de la ileocólica inferiormente.
- Arteria ileocólica. Nace a una altura variable, por lo general en sentido ligeramente superior al borde inferior de la tercera porción del duodeno. Se divide en dos ramas principales, una cólica y otra ileal. La rama cólica asciende a lo largo del colon ascendente y se anastomosa con la rama descendente de la arteria cólica derecha media o, cuando ésta se halla ausente, de la arteria cólica derecha. La rama ileal se inclina hacia el intestino delgado y constituye, anastomosándose con la rama terminal de la arteria mesentérica superior, el arco ileocólico. Del arco ileocólico y del arco paracólico formado por las arterias cólicas anastomosadas, nacen vasos terminales rectos destinados al ciego y al colon. Entre estos ramos terminales hay dos que presentan una disposición particular: la arteria cecal anterior y cecal posterior.

Después de dar todas sus ramas, la arteria mesentérica superior se comporta como una arteria intestinal y termina bifurcándose. De las dos ramas de bifurcación, una se anastomosa con la última de las ramas intestinales de la mesentérica y la otra con la rama ileal de la ileocólica.

Anastomosis de la arteria mesentérica superior ⁽¹⁷⁾

Se han descrito múltiples anastomosis, al menos teóricas, entre el sistema de la arteria mesentérica superior y el tronco celíaco y la arteria mesentérica

inferior. La posibilidad de que estas uniones arteriales puedan suplir el riego intestinal en los caso de obstrucción aguda de la arteria mesentérica superior es más bien escasa, pero cobran su importancia en obstrucciones crónicas. De tal manera, son efectivas cuando la oclusión se produce de manera lenta y progresiva, como en la isquemia mesentérica crónica.

Conexiones con el tronco celíaco

- Arco de Bühler: conducto vascular que se establece entre la arteria mesentérica superior por abajo y el tronco celíaco, arteria hepática común o arteria esplénica, por arriba. Aparecen solo en el 2% de las arteriografías y es un vestigio de la anastomosis longitudinal ventral embrionaria de los vasos intestinales primitivos.
- Arcos pancreático-duodenales: entre las arterias pancreaticoduodenales superiores, provenientes de la arteria gastroduodenal y las arterias pancreaticoduodenales inferiores, provenientes de la arteria mesentérica superior.
- Ramas aberrantes de la arteria mesentérica superior: la arteria gastroduodenal (9%) o la arteria hepática principal (24%) pueden tener su origen en la arteria mesentérica superior. Cuando existen, habitualmente poseen anastomosis con ramas originadas en el tronco celíaco.

Conexiones con la arteria mesentérica inferior

- Arteria marginal de Drummond: de disposición periférica en el mesocolon, discurre paralela a la pared del intestino y muy cerca del mismo, dando vasos rectos para éste.
- Arteria anastomótica central: anastomosis directa entre las arterias cólicas media e izquierda. Es de disposición más central y de mayor calibre.

- Arco o arteria de Riolo: une la arteria cólica izquierda, con la porción proximal de la arteria cólica media.

1.1.4 Características histológicas del intestino delgado ⁽²⁰⁻²²⁾

El intestino delgado se compone de cuatro capas, que de fuera a dentro son: serosa, muscular, submucosa y mucosa.

Serosa

Constituye una prolongación de peritoneo que cubre completamente el yeyuno y el íleon, pero solo la porción anterior del duodeno. El peritoneo duodenal está dividido en tres partes por las raíces del mesocolon transversal y del mesenterio. La serosa en el yeyunoíleon se continúa a lo largo del borde adherente de las asas intestinales con las dos hojas del mesenterio.

Está formada por una fina capa de células mesoteliales que descansan sobre un soporte de tejido conjuntivo.

Muscular

Compuesta por dos capas de fibras de músculo liso, una externa en la que las fibras tienen una disposición longitudinal, y otra interna, con fibras circulares que rodean la luz intestinal. Entre las dos capas hay células ganglionares y fibras nerviosas que forman el plexo mientérico de Auerbach. Las dos capas musculares están unidas por puentes mecánicos y funcionales (eléctricos), lo que hace que se comporten funcionalmente como un todo.

A nivel del duodeno, esta túnica está atravesada por los conductos colédoco y pancreático.

Submucosa

Capa de tejido conjuntivo moderadamente denso, con diversas estructuras en su interior. Un aspecto evidente del duodeno es la presencia de glándulas submucosas, también llamadas glándulas de Brunner.

- Células: linfocitos, células plasmáticas, eosinófilos y macrófagos.
- Vasos sanguíneos y linfáticos: donde drenan los capilares de la mucosa. Los linfáticos forman un plexo submucoso y desde ahí envían una prolongación terminal hacia las vellosidades que se denominan vaso quilífero central, y que finaliza, de forma ciega, en la proximidad de la punta de cada vellosidad.
- Células ganglionares y fibras nerviosas: constituyen el plexo submucoso de Meissner. Las interconexiones de este plexo con el mientérico determinan que el sistema nervioso autónomo constituya en el intestino una auténtica unidad funcional.

Mucosa

Capa más interna, de mayor grosor y de mayor importancia funcional. Se divide en:

- Muscularis mucosae: capa fina de músculo liso, que separa la mucosa de la submucosa. Está compuesta de dos capas, una circular interna y otra longitudinal externa. Desde la muscular de la mucosa, parten finos haces de células musculares lisas que forman un eje longitudinal en la parte central de la vellosidad.
- Lámina propia: capa de tejido conjuntivo laxo. Forma el núcleo de las vellosidades y rodea a las criptas. Consta de:
 - Fibras: colágenas, reticulares y elásticas. Las fibras reticulares forman un entramado más denso hacia el epitelio formando la lámina reticular de la membrana basal.

- Células: eosinófilos, células plasmáticas, macrófagos, linfocitos y fibroblastos. Los linfocitos de la lámina propia a menudo forman nódulos linfáticos aislados, llamados folículos solitarios. En general, aumentan la cantidad de tejido linfoide en dirección al íleon, donde aparecen cúmulos de folículos linfáticos denominados placas de Peyer, constituyendo el mayor componente de GALT (gut associated lymphoid tissues).
- Fibras nerviosas amielínicas: para la regulación del flujo sanguíneo y de la absorción de la mucosa.
- Capilares: la lámina propia contiene una rica red vascular capilar situada debajo del epitelio.

La lámina propia tiene una función defensiva como barrera mecánica a través de sus macrófagos y linfocitos, además de una función de soporte estructural del epitelio de la mucosa.

- Epitelio: cubre las criptas y las vellosidades. Está compuesto por células altas columnares separadas de la lámina propia por una membrana basal. La función principal del epitelio de las vellosidades es la absorción, mientras que las células de las criptas tienen una función secretora y de multiplicación.

Epitelio de las vellosidades

Formado por células absorptivas (enterocito), células caliciformes y algunas células endocrinas.

Las vellosidades son proyecciones digitiformes de la mucosa. Consisten en una matriz de tejido conectivo laxo cubierta por un epitelio columnar simple. La matriz de las vellosidades es una extensión de la lámina propia, que contiene numerosos fibroblastos, células musculares lisas, linfocitos, células plasmáticas, eosinófilos, macrófagos y una red de capilares sanguíneos

fenestrados localizados justamente debajo de la lámina basal epitelial. Además, la lámina propia de la vellosidad, contiene un capilar central linfático terminal. Las células musculares lisas derivan de la muscularis mucosae y se extienden dentro de la vellosidad, acompañando al conducto linfático. Estas células musculares lisas hacen que la vellosidad se contraiga y acorte intermitentemente, lo que impulsa el drenaje del capilar linfático hacia los vasos linfáticos que rodean la muscularis mucosae.

El enterocito (que comprende aproximadamente el 95% de la población general epitelial del intestino delgado) es una célula cilíndrica alta, con un núcleo basal, abundantes mitocondrias y un retículo endoplasmático liso bastante desarrollado. Su principal característica histológica es la presencia en la superficie luminal de la célula del denominado borde en cepillo o chapa estriada, una serie de microvellosidades dispuestas en paralelo entre sí, y cubiertas por el glucocáliz capa de glucoproteínas entre las que están diferentes enzimas intestinales responsables de la división final de las sustancias nutritivas. Las membranas celulares laterales de dos células contiguas se encuentran relacionadas en su porción superior por complejos de unión que sellan completamente la superficie mucosa. Las microvellosidades aumentan la extensión de la superficie apical hasta 600 veces; se reconocen al microscopio óptico y forman el llamado borde estriado.

Epitelio de las glándulas intestinales o criptas de Lieberkühn

Son estructuras tubulares simples que se extienden desde la muscularis mucosae hacia la lámina propia, donde se abren a la luz intestinal en la base de las vellosidades. Posee cinco tipos de células:

- Células de Paneth: se encuentran en la base de las criptas. Su función primaria es mantener la inmunidad innata de la mucosa secretando sustancias antimicrobianas.

- Células caliciformes: se sitúan en la pared lateral de las criptas y las vellosidades. Segregan mucina a la luz intestinal.
- Células enteroendocrinas: van a segregar distintas sustancias con acción local o general. Entre otras sustancias producen serotonina, bradiquinina, somatostatina, péptido intestinal vasoactivo, endorfinas, bombesina, etc.
- Células M (microfold cells): son enterocitos modificados que recubren las placas de Peyer y otros nódulos linfáticos grandes en la lámina propia.
- Células indiferenciadas o principales: se localizan en la mitad inferior de las criptas y darán origen a los enterocitos, células caliciformes y células endocrinas.

Multiplicación celular ⁽²³⁻²⁵⁾

Una de las funciones de las criptas es la multiplicación celular para la regeneración del epitelio de la mucosa.

La mayor parte de la replicación sirve para reponer las células mucosas y los enterocitos de las vellosidades, células que presentan una vida corta, al desprenderse de los vértices de las vellosidades unos 5 días después de su producción.

La mucosa del yeyuno presenta el ritmo más rápido de renovación celular de todos los tejidos del cuerpo. El epitelio intestinal se renueva por completo cada 2-3 días en roedores de laboratorio y cada 3-6 días en el ser humano.

La proliferación celular se produce en la mitad inferior de las criptas, en la llamada zona de replicación, por multiplicación de las células indiferenciadas pluripotenciales y posterior diferenciación a medida que ascienden hacia la punta de las vellosidades. En las vellosidades no hay mitosis. El ciclo de división celular tarda entre 10 y 17 horas en roedores y 24 horas en el ser humano. Las células destinadas a ser células caliciformes y los enterocitos sufren dos divisiones adicionales después de abandonar las células

pluripotenciales. Las células endocrinas también derivan de las células madre pluripotenciales pero solo sufren una división antes de su diferenciación.

Migración y maduración celular

El proceso de migración y reemplazo es distinto según el tipo celular. Las células caliciformes y los enterocitos tienen un comportamiento similar. Sufren un proceso de diferenciación a medida que ascienden por la vellosidad, perdiendo su capacidad para la proliferación y la secreción (en el caso del enterocito) y aumentando su capacidad para la absorción hasta un máximo en el tercio superior de la vellosidad, donde pierden su capacidad absorbente y se desprenden a la luz intestinal. El proceso de migración y maduración dura 6 días en yeyuno y 4 días en íleon y como enterocito adulto la célula vive 2 días en la vellosidad. Las células endocrinas van a ascender también hacia la vellosidad, pero más despacio que las células caliciformes y absorbentes. Las células de Paneth no migran sino que permanecen en la base de las criptas cerca de las células madre de las que derivan. Tienen una vida media de 4 semanas.

Estructuras que aumentan la extensión de la superficie de absorción de la mucosa

Existen tres disposiciones estructurales del intestino que permiten incrementar la superficie de la mucosa de una manera extremadamente eficiente:

- Válvulas conniventes o de Kerckring: son pliegues circulares en forma de media luna, compuestos de mucosa y submucosa. Comienzan a aparecer a 5-6 cm del píloro. Son más numerosas en la parte distal del duodeno y al comienzo del yeyuno y van reduciendo en tamaño y frecuencia en el tercio medio del íleon.

- Velloidades intestinales: son la estructura más característica del intestino delgado. Miden 0.5-1.5 milímetros (mm) de altura por 0.1-0.3 mm de diámetro y van disminuyendo su altura cuanto más cerca del íleon distal. Están compuestas de mucosa. Constan de un eje central de fibras musculares envuelto por tejido conectivo de la lámina propia, y tapizadas de epitelio.

- Microvellosidades de los enterocitos: producen la principal amplificación de la superficie de absorción. Cada célula posee varios miles de microvellosidades estrechamente dispuestos.

1.2 Fisiopatología intestinal: isquemia-reperfusión

1.2.1 Fisiología intestinal ⁽²⁶⁻²⁸⁾

El intestino delgado y grueso reciben el 20% del gasto cardíaco en condiciones de reposo –de éste el 70% va a la mucosa (criptas y vellosidades) que es la estructura más sensible a la isquemia y submucosa, y el resto se distribuye entre la muscular y la serosa- que se incrementa hasta el 35% durante la digestión, a través de dos grandes troncos arteriales y una extensa red de colaterales que asegura el riego arterial del intestino en condiciones fisiológicas. El flujo sanguíneo al intestino delgado es de unos 500-600 mililitros por minuto pudiendo aumentar a más del 100% del valor habitual tras una comida.

Con las variaciones fisiológicas de la presión arterial no hay mucha variación en el flujo intestinal, pero en estados patológicos de bajas presiones el flujo mesentérico se hace mucho menor. En estas situaciones de redistribución de flujo, como en el shock, el área esplácnica contribuye a la redistribución gracias a la vasoconstricción del lecho arteriolar en respuesta a las aminas.

1.2.1A Flujo sanguíneo gastrointestinal, la circulación esplácnica ⁽²⁹⁾

Los vasos sanguíneos del sistema gastrointestinal son una parte de un sistema mucho mayor llamado la circulación esplácnica. Incluye el flujo sanguíneo a través del propio intestino, además del aporte sanguíneo al bazo, páncreas e hígado. El diseño de este sistema es tal, que toda la sangre que atraviesa el intestino, bazo y páncreas, pasa a través del hígado por vía del sistema porta. En el hígado, la sangre pasa a través de millones de sinusoides hepáticos y finalmente, deja el hígado a través de las venas hepáticas, que desembocan en la vena cava. Este flujo de sangre a través del hígado permite a las células reticuloendoteliales, dispuestas linealmente en los sinusoides hepáticos, eliminar las bacterias y otros agentes patógenos que podrían alcanzar al resto del organismo a través del tracto gastrointestinal.

Los nutrientes no grasos absorbidos en el intestino (carbohidratos y proteínas) son transportados por el sistema portal hacia los sinusoides hepáticos. Allí, tanto las células reticuloendoteliales como las células parenquimatosas principales del hígado –los hepatocitos- absorben y almacenan temporalmente entre la mitad y dos terceras partes de esos nutrientes. Además, multitud de procesos químicos intermediarios ocurren en esos hepatocitos.

La mayoría de las grasas que se absorben en el intestino no son llevadas a la circulación portal, sino que son absorbidas hacia los vasos linfáticos intestinales, y conducidas a la circulación sanguínea sistémica a través del conducto torácico, evitando el paso por el hígado.

La circulación intestinal cumple dos funciones básicas: proveer oxígeno a los tejidos y transferir los nutrientes absorbidos al resto del cuerpo. Esta última tarea la hace junto con la circulación linfática. La gran área del tubo digestivo y de su circulación debe permitir estas dos funciones, pero también tiene que limitar la posible pérdida de proteínas o de cualquier sustancia desde la sangre hacia el exterior ⁽³⁰⁾.

1.2.1B Anatomía del riego sanguíneo intestinal ⁽²⁹⁾

El flujo sanguíneo intestinal se realiza a través de dos ramas ventrales de la aorta abdominal, la arteria mesentérica superior y la inferior, las cuales irrigan al intestino delgado y grueso gracias a un sistema arterial en arcada.

En la pared del intestino, las ramas arteriales se ramifican y envían arterias circulares de menor calibre en todas las direcciones alrededor del intestino, de forma que sus extremos se encuentran en el lado de la pared intestinal opuesto a la inserción mesentérica. De las arterias circulares salen otras arterias aún más pequeñas que penetran en la pared intestinal y se propagan: 1) a lo largo de los haces musculares; 2) hacia las vellosidades, y 3) hacia los vasos de la submucosa situados bajo el epitelio y que intervienen en las funciones secretoras y absorptivas del intestino.

A través de las vellosidades intestinales, el flujo sanguíneo se organiza de una manera característica, incluyendo unas pequeñas arteriolas y vénulas, que se interconectan a través de un sistema de múltiples capilares en espiral. Las paredes de las arteriolas son muy ricas en músculo y son también altamente activas en controlar el flujo de sangre a través de la vellosidad.

1.2.1C Efecto de la actividad intestinal y factores metabólicos en el flujo gastrointestinal ⁽²⁹⁾

En condiciones normales, el flujo sanguíneo de cada área del tracto gastrointestinal, como cada capa de la pared intestinal, está directamente relacionado con el nivel de la actividad local. Por ejemplo, durante la absorción activa de nutrientes, el flujo de sangre en las vellosidades y las regiones adyacentes de la mucosa, se incrementa en más de ocho veces. De la misma manera, el flujo de sangre en las capas musculares de la pared intestinal aumenta cuando se incrementa la actividad motora del intestino. De esta forma, tras ingerir alimento, la actividad motora, secretora y de absorción aumentan, por lo que el flujo de sangre aumenta de forma importante en la hora siguiente, regresando a sus niveles basales en 2 a 4 horas.

Posibles causas del incremento del flujo sanguíneo durante la actividad gastrointestinal ⁽²⁹⁾

A pesar de que la causa o las causas precisas del aumento del flujo sanguíneo durante el incremento de la actividad gastrointestinal no están totalmente claras, se conocen varios hechos:

- Varias sustancias vasodilatadoras son liberadas desde la mucosa al tracto intestinal durante el proceso digestivo. La mayoría de ellos son hormonas, entre las que se encuentran la colecistoquinina, péptido intestinal vasoactivo, gastrina y secretina. Estas mismas hormonas controlan las actividades motoras y secretoras específicas del intestino. La adenosina es un potente

vasodilatador en el lecho esplácnico y hay evidencia de su acumulación durante las hiperemias reactiva y postprandial en el intestino delgado. Esta vasodilatación se modifica al interferir la acción o el metabolismo de la adenosina, ya sea por cambios en la presión arterial o en la absorción de nutrientes⁽³⁰⁾.

- Algunas de las glándulas gastrointestinales también liberan dentro de la pared intestinal dos quininas, la calidina y la bradiquinina, al mismo tiempo que liberan sus secreciones a la luz intestinal. Estas quininas son potentes vasodilatadores que se cree que causan gran parte de la vasodilatación mucosa que ocurre a lo largo de la secreción intestinal.

- La disminución de la concentración de oxígeno en la pared intestinal puede aumentar el flujo sanguíneo intestinal al menos un 50 %. No obstante, el gasto metabólico de la mucosa y la pared intestinal durante la actividad intestinal, probablemente disminuya la concentración de oxígeno lo suficiente como para causar vasodilatación. La disminución del oxígeno también puede motivar un cuarto paso con el aumento en los niveles de adenosina, un vasodilatador bien conocido que puede ser responsable también de la vasodilatación intestinal.

- Hay otros posibles reguladores locales de la circulación intestinal, como prostaglandinas, angiotensina, histamina, serotonina, hiperosmolaridad, iones potasio, purinas y purinonucleótidos. De éstas, se ha observado que las prostaglandinas y la angiotensina regulan la motilidad vascular del tracto gastrointestinal, pues actúan como factores homeostáticos en la microcirculación. La histamina es un potente vasodilatador, pero no se ha encontrado un papel fisiológico en el intestino. Quizá en una situación patológica, sobre todo donde haya mastocitosis en la mucosa o la serosa, la histamina pueda desempeñar un papel importante⁽³⁰⁾.

Por lo tanto, el aumento del flujo sanguíneo durante la actividad gastrointestinal es originado, probablemente, por una combinación de muchos de los factores comentados y de otros todavía por descubrir.

Flujo sanguíneo concurrente en la vellosidad ⁽²⁹⁾

El flujo arterial que entra en la vellosidad y el flujo venoso que sale de ella son en direcciones opuestas, y además, los vasos se encuentran muy próximos unos a otros. Explicado por esta disposición vascular, la mayor parte del oxígeno difunde desde las arteriolas directamente hacia las vénulas adyacentes, sin ser transportado por la sangre hacia los extremos de la vellosidad. Hasta el 80% del oxígeno total puede experimentar este cortocircuito y por lo tanto, no está disponible para las funciones metabólicas locales de la vellosidad. En condiciones normales, este shunt de oxígeno desde las arteriolas hacia las vénulas no es peligroso para la vellosidad, pero en condiciones patológicas en las que el flujo sanguíneo al intestino está comprometido, el déficit de oxígeno al extremo de la vellosidad puede alcanzar tal importancia, que la punta o incluso la vellosidad completa, puede sufrir una isquemia y llegar a desintegrarse. Por lo tanto, por esta y por otras razones, en muchas de las enfermedades gastrointestinales, la vellosidad se encuentra seriamente en peligro con una capacidad de absorción severamente deprimida.

1.2.1D Regulación del flujo sanguíneo gastrointestinal ^(26, 29, 31)

Existe un preciso mecanismo nervioso, así como factores humorales y locales, que regulan el flujo mesentérico en función de las necesidades digestivas o de los requerimientos generales del organismo.

Control nervioso

La estimulación de los nervios parasimpáticos que inervan al estómago y al colon distal incrementa el flujo de sangre local al mismo tiempo que aumentan la secreción glandular. Este incremento sanguíneo resulta

secundario al aumento de la actividad glandular y no a un efecto directo de la estimulación nerviosa.

La estimulación simpática, por el contrario, tiene un efecto directo esencial en el tracto gastrointestinal que causa una importante vasoconstricción de las arteriolas con una gran caída en el flujo de sangre. Tras unos pocos minutos de esta vasoconstricción, el flujo retorna casi a valores normales por el mecanismo llamado “escape de autorregulación”. Éste se produce porque los mecanismos metabólicos locales vasodilatadores que son estimulados por la isquemia, sobrepasan la actividad vasoconstrictora simpática y, por lo tanto, redilatan las arteriolas, obteniendo el retorno del flujo sanguíneo necesario a las glándulas y músculo intestinal.

Una propiedad importante de esta vasoconstricción simpática del intestino reside en limitar el riego gastrointestinal y de otros territorios espláncnicos durante cortos períodos en que se requiere aumentar el flujo hacia el músculo esquelético o el corazón. También, durante el shock circulatorio, cuando todos los tejidos vitales del organismo se encuentran en peligro de muerte celular por isquemia (especialmente el cerebro y el corazón), la estimulación simpática puede disminuir el flujo sanguíneo espláncnico a límites muy bajos durante un período de incluso una hora.

La estimulación simpática también causa una severa vasoconstricción de las venas intestinales y mesentéricas de gran volumen. Esta disminución en el volumen de estas venas, desplaza grandes cantidades de sangre hacia otras partes de la circulación. En el shock hemorrágico u otros estados de bajo volumen sanguíneo, este mecanismo puede aportar entre 200 a 300 mililitros de sangre adicionales a la circulación general.

En las vellosidades hay poca inervación simpática y poca musculatura lisa, de manera que en los vasos de la vellosidad no puede radicar una importante vasomotricidad activa como sí sucede en las criptas³⁰.

Control humoral ^(31, 32)

Varias sustancias circulantes como las catecolaminas, la vasopresina, la angiotensina II y algunas prostaglandinas tienen un importante efecto vasoconstrictor del área esplácnica.

En los estados de bajo flujo se produce una hipoperfusión renal que da lugar a un aumento de renina y secundariamente de angiotensina II que provocaría una vasoconstricción intestinal. Se cree que este mecanismo puede contribuir a los casos de isquemia mesentérica no oclusiva o isquemia de los estados de bajo flujo.

La vasopresina es también una potente vasoconstrictora esplácnica, con un efecto mucho mayor que el que produce sobre la circulación general. Esta acción la hace eficaz en el tratamiento de algunos casos de hemorragia gastrointestinal.

Control local ^(31, 32)

Diversas prostaglandinas ($\text{PGF}_{2\alpha}$, PGB_2 y PGD_2) y leucotrienos (LTC_4 y LTD_4) son vasoconstrictores intestinales. Otros metabolitos del ácido araquidónico sin embargo tienen una acción vasodilatadora como se demuestra por la disminución del flujo esplácnico que se produce tras el bloqueo del metabolismo del ácido araquidónico con la administración de aspirina o indometacina.

Factores derivados del asa isquémica como la adenosina, el incremento en la concentración de potasio, la hiperosmolaridad, la disminución de la tensión local de oxígeno o el incremento en la concentración de dióxido de carbono y la acidosis secundaria, van a tener acción vasodilatadora a nivel local.

1.2.2 Isquemia intestinal ⁽²⁶⁻²⁸⁾

1.2.2A Definición

La isquemia mesentérica aguda (IMA) es consecuencia de la oclusión de la arteria mesentérica superior por trombosis o por embolia. En su forma más grave, se afecta todo el intestino delgado y el colon derecho, desde la cuarta porción duodenal hasta el colon transversal y causa lesión celular por falta de oxígeno y nutrientes.

1.2.2B Fisiopatología

El intestino está protegido de las formas moderadas de isquemia por la extensa red de colaterales. Sin embargo, si el flujo disminuye por un prolongado período de tiempo se produce una lesión. El flujo oscila en un media de 1.500 a 1.800 mL por minuto, con amplias variaciones como respuesta a las comidas o el ejercicio.

El intestino puede soportar un 75% de disminución del flujo durante 12 horas sin lesiones intestinales significativas. En condiciones normales, sólo el 20% de los capilares están abiertos y se abren progresivamente cuando el aporte de oxígeno es insuficiente.

Cuando se produce la obstrucción de las arterias intestinales mayores, la reducción de la presión en las arterias distales desencadena la apertura de las colaterales. Después de varias horas, las arterias distales comienzan a constreñirse y disminuye el flujo de dichas colaterales. Esta vasoconstricción es inicialmente reversible, pero cuando se mantiene, se hace irreversible aunque se resuelva el origen de la isquemia.

Las lesiones originadas por la isquemia se deben inicialmente a la hipoxia, no obstante, también la reperfusión da lugar a graves lesiones, tanto en el intestino como a distancia (pulmón y riñón).

Tras un período de isquemia, la primera consecuencia es la pérdida de un gran volumen circulatorio y proteínas en la luz intestinal, fundamentalmente

por la pérdida de la capacidad absorptiva de las vellosidades intestinales, que son las estructuras más sensible a la hipoxia, en la pared intestinal. Esta pérdida favorece la hipoperfusión. Se produce un edema de la pared intestinal y una alteración de la transferencia de líquido, que se acumulan en la cavidad peritoneal. Todo esto acentúa la hipoxia tisular y desencadena la acidosis láctica.

Como consecuencia del daño inicial de la mucosa por la isquemia, se produce el daño de la barrera mucosa intestinal y por lo tanto el paso a la circulación sistémica de bacterias presentes habitualmente en el tubo digestivo (translocación bacteriana), que aparece a los 30 minutos del inicio, con un máximo a las 12 y 24 horas.

La reperfusión provee oxígeno para la reacción con la hipoxantina, que da lugar en última instancia a una sobreproducción de superóxidos, capaces de degradar los componentes lipídicos de las membranas celulares. Se libera una gran cantidad de sustancias que promueven un estado inflamatorio en el intestino y en otros órganos, cuyos epitelios se lesionan con mayor o menor gravedad.

Existe un amplio rango de hallazgos patológicos macroscópicos y microscópicos en la isquemia intestinal. En un período inicial que corresponde a la isquemia aguda se aprecia necrosis no transmural (necrosis mucosa, edema de la submucosa, hemorragia y ulceración), estado reversible y donde es posible un tratamiento conservador sin secuelas o resultar en fibrosis y estenosis. Esta afectación es más frecuente en la isquemia del colon. La evolución natural del período inicial sin tratamiento lleva a un infarto intestinal, gangrena o perforación, por lo que las lesiones ya son irreversibles y precisan resección intestinal. Esto es más típico en la isquemia mesentérica aguda. El límite entre estos dos estados se sitúa entre la 4ª y 10ª horas, pero en ocasiones este paso puede acelerarse o ser más prolongado, en función de la gravedad de la isquemia.

1.2.2C Epidemiología

La isquemia mesentérica representa un serio problema clínico, tanto diagnóstico como terapéutico.

Su incidencia es menor a 1 de cada 1000 admisiones hospitalarias; sin embargo, el envejecimiento de la población y las mayores posibilidades de reanimación en unidades de cuidados intensivos de pacientes críticos han conducido a un incremento en la aparición de ese problema clínico.

La dificultad diagnóstica, que condiciona un retraso en el tratamiento, hace que la mortalidad total de la isquemia aguda permanezca alta, alrededor del 71%. Sin embargo, las tasas de supervivencia aumentan conforme los pacientes se diagnostican y se tratan en las primeras 24 horas, especialmente cuando se generaliza la utilización de angiografías y vasodilatadores espláncnicos.

1.2.2D Clasificación de isquemia mesentérica

Se puede clasificar atendiendo a diferentes factores:

- Según el tiempo de instauración:
 - Isquemia de instauración rápida o isquemia mesentérica aguda
 - Isquemia de instauración lenta o isquemia mesentérica crónica.
- Según el territorio afectado por la obstrucción:
 - territorio arterial
 - territorio venoso
- Según el mecanismo etiopatogénico implicado:
 - No trombótica: llamada no oclusiva.
 - Trombótica: que a su vez puede ser por embolismo arterial, trombosis arterial o trombosis venosa.

1.2.2E Etiología de isquemia mesentérica aguda

Las causas de la isquemia mesentérica aguda se enumeran en la tabla 1.

Tabla 1. *Etiología de la isquemia mesentérica aguda*

<i>Oclusión arterial</i>
Embolismo arterial Trombosis arterial Dissección o traumatismo arterial Síndrome de compresión del tronco celíaco Embolismo tumoral Fibrosis retroperitoneal Enfermedades del tejido conectivo Coagulación intravascular diseminada Enfermedad de Takayasu
<i>Trombosis venosa mesentérica</i>
Primaria Situaciones de hipercoagulabilidad: <i>Coagulopatías</i> <i>Procesos tumorales</i> <i>Policitemia vera</i> <i>Deshidratación</i> Hipertensión portal, síndrome de Budd-Chiari Insuficiencia cardíaca congestiva
<i>No oclusiva</i>
Shock hipovolémico Fallo cardíaco agudo grave Consumo de tóxico: <i>Ergotamina</i> <i>Cocaína</i> <i>Digoxina</i> Síndrome postcoartectomía

El embolismo arterial es la causa más frecuente de isquemia arterial aguda, suponiendo entre un 33- 50% y dentro de él la fibrilación auricular es la arritmia más usualmente implicada. La trombosis arterial representa un 10%, siendo característico de pacientes ancianos con enfermedad aterosclerótica generalizada. El 25% corresponde a estados de isquemia mesentérica no oclusiva, incluyendo estados de hipovolemia, hipotensión o de bajo gasto cardíaco. La trombosis venosa implica a un 10% de pacientes, detrás de la

cual hay que descartar siempre la presencia de patología cancerosa potencial. Por último, con menor frecuencia está la isquemia segmentaria focal (5%).

La trombosis arterial conlleva una elevada mortalidad (77.4%), seguida por la isquemia mesentérica no oclusiva (72.7%), la embolia arterial (54.1%) y la trombosis venosa (32.1%)⁽³³⁾.

1.2.2F Clínica de la isquemia intestinal aguda^(28, 34)

Embolismo arterial

El vaso más frecuentemente afectado es la arteria mesentérica superior, seguida por el tronco celíaco y por último la mesentérica inferior. Suele afectar a la mesentérica superior en su trayecto distal al nacimiento de la arteria cólica media, respectando por lo tanto el principio del intestino delgado (duodeno y yeyuno proximal).

La clínica comienza por un dolor abdominal, de instauración brusca y localización variable, pero de suficiente intensidad como para reclamar atención médica urgente. Sólo en un tercio de los pacientes aparece la clásica tríada de dolor abdominal, fiebre y heces sanguinolentas.

En la mayoría de los casos, el intenso dolor abdominal no se acompaña de signos de irritación peritoneal a la exploración; la clínica de la isquemia mesentérica aguda suele describirse como de “dolor abdominal grave que no se corresponde con la exploración física”.

El examen físico revela un dolor abdominal sin proporción con los hallazgos exploratorios, aumento de ruidos hidroaéreos y distensión abdominal. Suele evolucionar a un estado de abdomen agudo, secundario a infarto intestinal.

El diagnóstico precoz de la isquemia mesentérica aguda exige un elevado índice de sospecha clínica.

La tomografía computerizada (TC) juega un papel fundamental en el diagnóstico y tratamiento de estos enfermos, aunque no siempre aporta el diagnóstico de certeza, su variante con angiografía alcanza una sensibilidad del 94% y una especificidad del 96%.

El tratamiento consiste inicialmente en una reanimación agresiva en la que se corrijan los factores desencadenantes y se controlen las alteraciones fisiopatológicas, como la deshidratación, la acidosis y el deterioro hemodinámico. Dadas las alteraciones de la pared intestinal y la proliferación bacteriana, deben administrarse antibióticos de amplio espectro de manera profiláctica.

En la mayoría de los pacientes con un embolismo mayor, es obligatorio realizar una laparotomía exploradora ante la sospecha clínica, antes de que los signos de irritación peritoneal aparezcan. Sólo una pequeña fracción de pacientes con oclusión parcial de la arteria mesentérica superior pueden tratarse de manera endovascular, con perfusión percutánea de sustancias, como trombolíticos y papaverina, y seguimiento mediante arteriografías seriadas.

En la embolia pura, la embolectomía con catéter de Fogarty suele ser suficiente para restablecer la perfusión.

Una vez restablecida la circulación arterial, se debe valorar la viabilidad intestinal, para lo que hay que esperar entre 15 y 30 minutos antes de proceder a la resección de áreas no viables. En general, se prefiere una resección intestinal económica, sin incluir las áreas de dudosa viabilidad, más aún si el área necrótica es extensa. Ello supone la realización del second look en los pacientes en que existe duda en la afectación de las áreas del intestino respetadas.

Trombosis arterial

Se trata de una patología con una elevada mortalidad, que llega a alcanzar el 90% de los casos. La mayoría de los pacientes afectados habían sufrido síntomas de isquemia mesentérica crónica previamente, sin haberse etiquetado como tales, como pérdida de peso y dolor abdominal postprandial.

En la historia clínica suelen presentar hábito tabáquico, enfermedad arterial periférica, hipertensión arterial, dismotilidad de la vesícula biliar, gastroparesia o úlceras gástricas (estos tres últimos síntomas propios de enfermedades del tronco celíaco).

El cuadro clínico se caracteriza por dolor abdominal de comienzo más gradual que en la embolia, se asocia a distensión abdominal y signos de deshidratación. Son frecuentes las náuseas, los vómitos y la diarrea con sangre microscópica o macroscópica visible.

La arteriografía, si está disponible, o la angio-TC muestran la oclusión de la arteria mesentérica superior en el origen y resulta frecuente la presencia de lesiones crónicas en otros niveles del árbol arterial esplácnico.

En cuanto al tratamiento, inicialmente debe establecerse una reanimación agresiva como en el caso de la embolia arterial. A nivel quirúrgico, la mayoría de los autores prefieren la realización de una derivación arterial al empleo de la trombectomía simple asociado a la angioplastia con parche de la región estenótica.

No oclusiva

Su aparición es característica de estados de “bajo flujo”, propios de situaciones de shock o de insuficiencia cardiaca severa. Entre el 30 y el 50% de los sujetos combinan el padecer una severa aterosclerosis de los troncos digestivos.

Se han descrito casos de isquemia mesentérica aguda no oclusiva como consecuencia, de la acción directa sobre el sistema de regulación simpática de la vascularización intestinal, de tóxicos como la ergotamina y la cocaína.

El tratamiento de los estados de shock con fármacos vasoactivos puede contribuir al mantenimiento de la vasoconstricción esplácnica.

En los casos de insuficiencia cardíaca crónica, el frecuente empleo de fármacos digitálicos puede contribuir a la respuesta espástica excesiva de la circulación mesentérica, ya que estos fármacos aumentan la presión portal y, por lo tanto, la resistencia del territorio vascular mesentérico, predisponiendo así a la aparición de espasmo arterial.

El dolor abdominal es el síntoma más frecuente; sin embargo, su presencia frecuentemente no se detecta, por tratarse de paciente críticos.

No existen datos en la historia clínica, la exploración física o de laboratorio que confirmen la presencia de un cuadro isquémico no oclusivo intestinal.

Las técnicas de imagen como la ecodoppler, la angio-resonancia magnética o la TC helicoidal no son realmente útiles en el diagnóstico de la isquemia no oclusiva, puesto que no ofrecen la suficiente resolución como para mostrar el espasmo de los vasos de pequeño calibre.

En el momento actual, la angiografía aórtica y mesentérica supone el mejor método diagnóstico disponible. La visualización angiográfica del afilamiento en el origen de las ramas intestinales de los grandes vasos mesentéricos y la reducción o ausencia de relleno de los vasos viscerales, en un paciente con clínica compatible, sugieren el diagnóstico de isquemia mesentérica aguda no oclusiva.

En el tratamiento, se debe comenzar por un control del estado de hipoperfusión sistémica a la vez que se realiza el tratamiento de la patología desencadenante. Se recomienda emplear monitorización agresiva para optimizar la fluidoterapia y el gasto cardíaco y eliminar el empleo de

digitálicos y de fármacos vasopresores del manejo del fallo cardíaco y el shock.

El papel del tratamiento quirúrgico en la isquemia no oclusiva se limita a la identificación y resección del intestino no viable. Se deben realizar procedimientos de second look siempre que se considere necesario.

Trombosis venosa

La mitad de los pacientes afectados presentan una historia previa de trombosis venosa profunda o de tromboembolismo pulmonar, además de presentar cirrosis o hipertensión portal.

La mortalidad es elevada, cifrándose entre el 20 y 50%.

Los vasos afectados con más frecuencia son: vena mesentérica superior (70.6%), vena esplénica (35.3%) y vena porta (32.8%).

La trombosis venosa extensa compromete el drenaje sanguíneo intestinal, condicionando la aparición de un secuestro de fluidos que provoca situaciones de hipovolemia y hemoconcentración. Debido a la estasis venosa, se produce la progresión de la trombosis hacia el lecho capilar, lo que compromete el flujo arterial y provoca fenómenos de vasoconstricción secundarios a la irritación arteriolar. El edema de la pared intestinal derivado de la afectación del drenaje venoso compromete aún más el flujo arterial y contribuye a fenómenos de vasoconstricción. Esta situación conduce a la aparición de infartos intestinales hemorrágicos.

La sintomatología típica es el dolor abdominal cólico, no localizado y desproporcionado con los hallazgos de la exploración. Otros síntomas frecuentes son la anorexia y la diarrea, ocasionalmente con sangre.

En la exploración física, el hallazgo más constante es la distensión abdominal, más llamativa que el timpanismo que le acompaña, ya que se

debe fundamentalmente al edema de la pared intestinal y al secuestro de fluidos.

No hay datos clínicos de laboratorio o de radiología simple que aporten un diagnóstico definitivo de trombosis venosa mesentérica. Suele ser necesario un alto índice de sospecha para llegar al diagnóstico.

En la actualidad, la TC helicoidal con contraste ha desbancado a la angiografía como gold estándar en el diagnóstico de la trombosis venosa mesentérica. El hallazgo principal de la TC en esta patología es la dilatación de la vena mesentérica o portal, con marcada definición de la pared y una imagen de baja densidad en la luz que corresponde al trombo. Otros hallazgos radiológicos son la presencia de gas en la pared del intestino, el engrosamiento de la pared y las irregularidades de la grasa peritoneal.

El tratamiento inicial es médico y se reserva la cirugía para casos con sospecha de necrosis intestinal o peritonitis.

En primer lugar, se debe establecer el soporte hemodinámico y corregir la hemoconcentración y la acidosis metabólica si están presentes, cuando es posible, de los factores desencadenantes de la trombosis mesentérica venosa. Además, se debe instaurar la cobertura antibiótica de amplio espectro y descompresión con sonda nasogástrica. El tratamiento principal de esta entidad es la anticoagulación y debe mantenerse de forma indefinida debido a la tasa de recurrencia de hasta el 36%.

1.2.3 Fisiopatología de la isquemia-reperfusión intestinal (IRI)

De todos los órganos, el intestino es probablemente el más sensible a la isquemia-reperfusión (IR). La mucosa intestinal está compuesta por células lábiles que son fácilmente lesionadas por episodios de isquemia. Además, la perfusión *per se* resulta en un mayor daño a la mucosa que la lesión producida solo por la isquemia. Se ha demostrado que los enterocitos que están localizados en los extremos de los villi son más sensibles al efecto de la isquemia; este hecho se ha atribuido a que constituyen el final de la

distribución de la arteriola central que aporta una menor tensión de oxígeno comparada con las criptas⁽³⁵⁾. Sin embargo, en el año 2002 se demostró que la sensibilidad del enterocito depende de su estado de diferenciación⁽³⁶⁾.

Por otra parte, los cambios morfológicos que resultan de la lesión por isquemia-reperusión no son uniformes.

Las consecuencias de la IRI se pueden dividir en:

- Alteraciones en la función absortiva intestinal

La oclusión de la arteria mesentérica superior seguida de un período de reperusión puede desembocar en una deficiente absorción de nutrientes⁽³⁷⁾ o incluso en casos severos como en los que se produce infarto intestinal en un síndrome de intestino corto⁽³⁸⁾.

- Translocación bacteriana

Constituye el paso de bacterias desde el tracto gastrointestinal a través del epitelio de la mucosa hacia lugares extraintestinales como los ganglios linfáticos mesentéricos, el hígado, el bazo y al torrente sanguíneo durante el daño de la barrera mucosa. Como consecuencia, las bacterias pueden diseminar a través del organismo, produciendo sepsis, shock o fallo multiorgánico⁽³⁹⁾.

Los factores implicados en su etiología que se producen durante la IRI son tres⁽⁴⁰⁾:

- 1.- el aumento de permeabilidad intestinal
- 2.- el sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado
- 3.- la alteración en la respuesta inmune

- Daño a órganos a distancia

La lesión de isquemia-reperfusión en el intestino puede resultar en la producción de moléculas que pueden dañar tejidos distantes. Moléculas tales como peróxido de hidrógeno, radicales superóxido, mediadores inflamatorios endógenos y las citoquinas pro-inflamatorias pueden ser liberadas dentro de la circulación portal y sistémica, provocando alteraciones en diversos órganos a distancia. Así puede desarrollar complejas situaciones patológicas como el síndrome de respuesta sistémica inflamatoria o el fallo multiorgánico. También puede provocar un síndrome de distress respiratorio agudo por infiltración pulmonar de neutrófilos e incluso daño hepático y renal ⁽⁴¹⁾. Por tales razones, el intestino ha sido denominado el “motor invisible del fallo multiorgánico” ⁽⁴²⁾.

Mainous et al. en 1995 demostraron que el intestino puede ser capaz de producir citoquinas en respuesta a un insulto inflamatorio; sin embargo la relación entre la translocación bacteriana y la liberación de citoquinas derivadas del intestino no está clara ⁽⁴³⁾.

Una de las mayores fuentes de radicales libres de oxígeno es el intestino durante un proceso de isquemia-reperfusión. La isquemia de la mucosa intestinal incrementa la producción de xantina oxidasa, la cual, durante la reoxigenación reacciona con los sustratos purínicos hipoxantina y peróxido de hidrógeno. Los oxidantes generados durante la isquemia intestinal entran en la circulación sistémica y predisponen a los pacientes a un proceso inflamatorio sistémico ^(43,44).

1.2.4 Mediadores de la isquemia-reperfusión intestinal

❖ Neutrófilos polimorfonucleares (PMN)

La isquemia-reperfusión resulta en una activación leucocítica, quimiotaxis, adhesión del leucocito a la célula endotelial y migración a través de la pared de los vasos para infiltrar el tejido. Se reconoce que la adherencia de neutrófilos al endotelio microvascular es un prerrequisito para la migración extravascular al sitio de inflamación ⁽⁴⁵⁾.

La emigración de los PMN de las vénulas postcapilares hacia áreas de inflamación es un proceso altamente complejo desarrollado en tres fases:

- rodamiento o adhesión débil
- agregación o adhesión fuerte
- diapédesis o extravasación.

El primer paso iniciado por el proceso de isquemia-reperfusión consiste en un aumento de la expresión en superficie de las selectinas endoteliales, las cuales interaccionan con los oligosacáridos de la superficie de los leucocitos. Esto provoca la aproximación de los leucocitos a las quimioquinas, lo que activa las integrinas (CD11/CD18). Las integrinas a su vez, uniéndose a receptores endoteliales (ICAM-1), confieren la adhesión fuerte, seguida por la extravasación de neutrófilos ⁽⁴⁶⁾.

Existe una creciente evidencia que involucra a los PMN en la patofisiología del síndrome de IRI. Estudios microscópicos de tejidos expuestos a IRI revelan una respuesta inflamatoria aguda que se caracteriza por un incremento en la adhesión y migración de los PMN en las vénulas postcapilares. La intensidad de la acumulación de leucocitos obtenida por la isquemia-reperfusión es determinada por la magnitud y duración del daño isquémico ⁽⁴⁷⁾. Se puede cuantificar de manera indirecta la migración de los PMN mediante la medición de la actividad de la mieloperoxidasa en el intestino delgado.

Se ha sugerido que los leucocitos PMN son la fuente inicial de formación de radicales libres durante el síndrome de IRI y que provocan una disfunción celular en el tejido postisquémico ⁽⁴⁸⁾. Este hecho se basa en parte de la observación que los granulocitos activados producen metabolitos reactivos de oxígeno vía el sistema NADPH oxidasa y también secretan mieloperoxidasa (una enzima que cataliza la producción de potentes oxidantes citotóxicos, ácido hipoclorhídrico y N-cloraminas). Además, los

neutrófilos activados son capaces de dañar las células endoteliales y aumentar la permeabilidad endotelial de las células a través de la producción de oxidantes citotóxicos y toxinas no oxidativas (por ejemplo proteasas, proteínas catiónicas y colagenasa) ^(45, 49).

Se ha involucrado a los PMN en el tapón a nivel vascular que causa una distribución anómala del flujo capilar en estados de shock, lo que supone el empeoramiento de la microcirculación y la extensión de la isquemia ⁽⁵⁰⁾.

Se puede resumir, y teniendo en cuenta los hallazgos publicados por Hernández et al. ⁽⁴⁵⁾ que la invasión de neutrófilos media la lesión celular durante la I/R por dos mecanismos: uno es la exacerbación del daño isquémico obstruyendo la microcirculación e incrementando la permeabilidad a este nivel, y el otro es la liberación de sustancias citotóxicas en las células endoteliales y parenquimatosas o cerca de ellas.

❖ Óxido nítrico (NO)

El papel del NO en el síndrome de IRI es todavía una controversia. Juega un papel dicotómico como citotóxico y citoprotector, mientras que la inhibición del NO provoca disfunción tisular en ciertos modelos de IRI, en otros produce beneficios.

Hay datos que sugieren que el NO puede jugar un papel importante en la defensa de la mucosa bajo condiciones normales, pero esta situación es mucho más compleja en circunstancias en las que la mucosa está inflamada o dañada. Algunos estudios sugieren que el NO contribuye al daño tisular, mientras que otros le otorgan un papel de protección. Se ha propuesto que el NO reacciona con el anión superóxido, producido por los neutrófilos activados, para formar otro potente oxidante, el peroxidonitrito. Contrariamente, agentes que producen una liberación de NO en pequeñas cantidades durante prolongado tiempo, han demostrado que reducen la inflamación y aceleran la curación en afecciones intestinales. Muchas de estas discrepancias están relacionadas con las diferencias en la selectividad

de los inhibidores de la NO sintasa sobre sus diferentes isoformas. De tal forma, la mayoría de los estudios sugieren que el NO posee un papel de protección en el tracto gastrointestinal ⁽⁵¹⁾.

La isoforma inducible del NO (iNOS), aumenta la apoptosis de las células de la mucosa ⁽⁵²⁾ y durante los estadios tardíos de la reperfusión agrava el daño pulmonar al incrementar la producción de NO y la nitrosilación de residuos de tirosín proteínas ⁽⁵³⁾. Por el contrario, NO tiene posibles efectos beneficiosos en el intestino como neutralizar radicales libres, mantener la permeabilidad normal vascular, inhibir la proliferación del músculo liso, reducir la adherencia de los leucocitos al endotelio, prevenir la activación de los mastocitos e inhibir la agregación plaquetaria ^(54,55).

La isquemia-reperfusión es un estímulo para la interacción leucocito-endotelio. Se conoce que la pérdida de NO derivado del endotelio es una de las manifestaciones más tempranas de lesión por isquemia-reperfusión y se cree que el NO reducido juega un papel importante en la interacción leucocito-endotelio. De tal forma que la administración de NO o un complejo orgánico que libere moléculas de NO atenúa la acumulación de leucocitos PMN en el tejido postisquémico ⁽⁵⁶⁾.

Durante las fases tempranas de la reperfusión existe una limitación a la acumulación de NO y en ausencia de NO, el anión superóxido (O_2^-) sufre una dismutación espontánea para formar peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Éste H_2O_2 a su vez, promueve la activación de la fosfolipasa A2 y favorece la acumulación de mediadores proinflamatorios como el factor activador de plaquetas y los leucotrienos. Estos pasos conllevan una seria disfunción del endotelio y un daño tisular mediado por PMN ⁽⁵⁶⁾.

❖ **Xantina oxidasa y radicales libre de oxígeno**

Durante el período isquémico, el ATP intracelular es catabolizado a hipoxantina, que se acumula en los tejidos ⁽⁵⁷⁾. La depleción de ATP resulta en una pérdida de regulación en los canales iónicos dependientes de ATP,

provocando un intercambio pasivo de iones a través de la membrana, K^+ y Mg^{2+} difunden fuera, pero Na^+ , Ca^{2+} y H_2O difunden dentro. El incremento en el Ca^{2+} intracelular activa una proteasa dependiente de calcio, que convierte irreversiblemente la xantina deshidrogenasa a xantina oxidasa. Ésta, durante el período de reperfusión, provoca la reacción de hipoxantina con oxígeno molecular, produciendo radicales libres de oxígeno como son el O_2^- y el H_2O_2 ^(58,59) (Figura1).

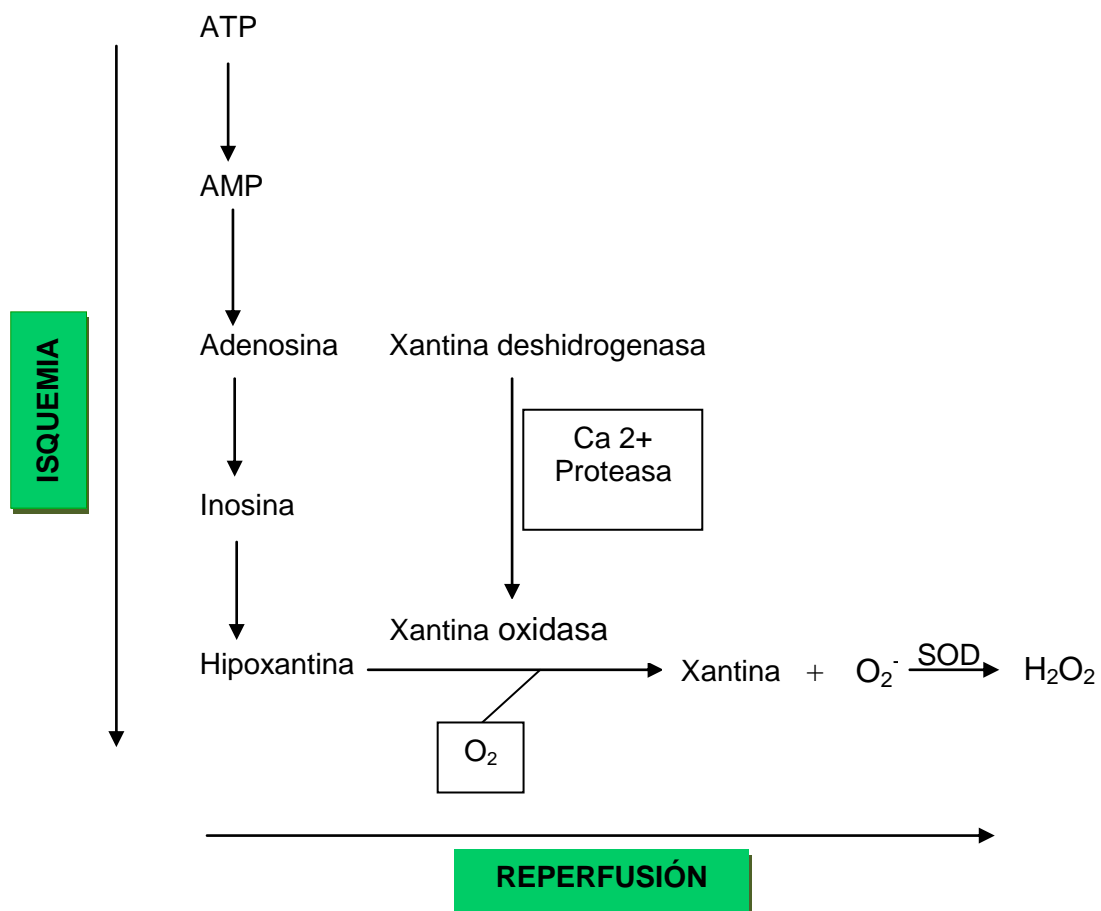


Figura 1. Mecanismo de la producción de radicales libres de oxígeno mediado por xantina oxidasa ⁽⁵⁹⁾

La relación entre la duración de la isquemia y la disminución de ATP en el tejido intestinal ha sido determinada en un modelo experimental en ratas. Blum et al. ⁽⁶⁰⁾ demostraron una completa depleción de ATP después de 20 minutos de isquemia completa. Lo que supone que sólo 30 minutos de

isquemia son necesarios para inducir daño irreversible en el intestino de la rata ⁽⁶¹⁾.

En el intestino, a diferencia de otros órganos, la tasa de conversión de xantina deshidrogenasa a xantina oxidasa es extremadamente rápida; realizándose esta conversión completa en sólo un minuto de isquemia intestinal ⁽⁶²⁾.

Evidencia experimental indica que los metabolitos reactivos de oxígeno generados por la xantina oxidasa atraen a los polimorfonucleares al tejido postisquémico. Los inhibidores de xantina oxidasa y los extraedores de radicales libres han demostrado disminuir tanto el número de polimorfonucleares en el tejido reperfundido como la lesión microvascular asociada ^(63,64).

En condiciones fisiológicas el O_2^- es neutralizado por la superóxido dismutasa que lo convierte en H_2O_2 , pero durante el período de reperfusión esta reacción está sobresaturada ⁽⁵⁸⁾.

En comparación con otros tejidos, la mucosa intestinal tiene una enorme capacidad para oxidar a la hipoxantina por vía de la xantina oxidasa. La actividad intestinal de xantina oxidasa se encuentra casi exclusivamente en la capa mucosa, con un incremento de gradiente de su actividad desde la base de la vellosidad hasta la punta de ésta. Se ha demostrado un gradiente similar para la vulnerabilidad a la lesión por isquemia-reperfusión ⁽⁶⁵⁾.

La formación de radicales libre de oxígeno consiste en tres componentes ⁽⁶⁶⁾:

1. Existen radicales que aparecen directamente de los neutrófilos extravasados y constituyen el 50% de la cantidad detectada.
2. Hay radicales que se originan de la reacción xantina oxidasa y suponen un 15% del total.

3. El 35% residual de la cantidad total de radicales, se deben a varios factores desconocidos.

El radical hidroxilo es el más reactivo y con vida más corta de los radicales de oxígeno. Reacciona con todas las sustancias biológicas como proteínas, polisacáridos y ácidos nucleicos.

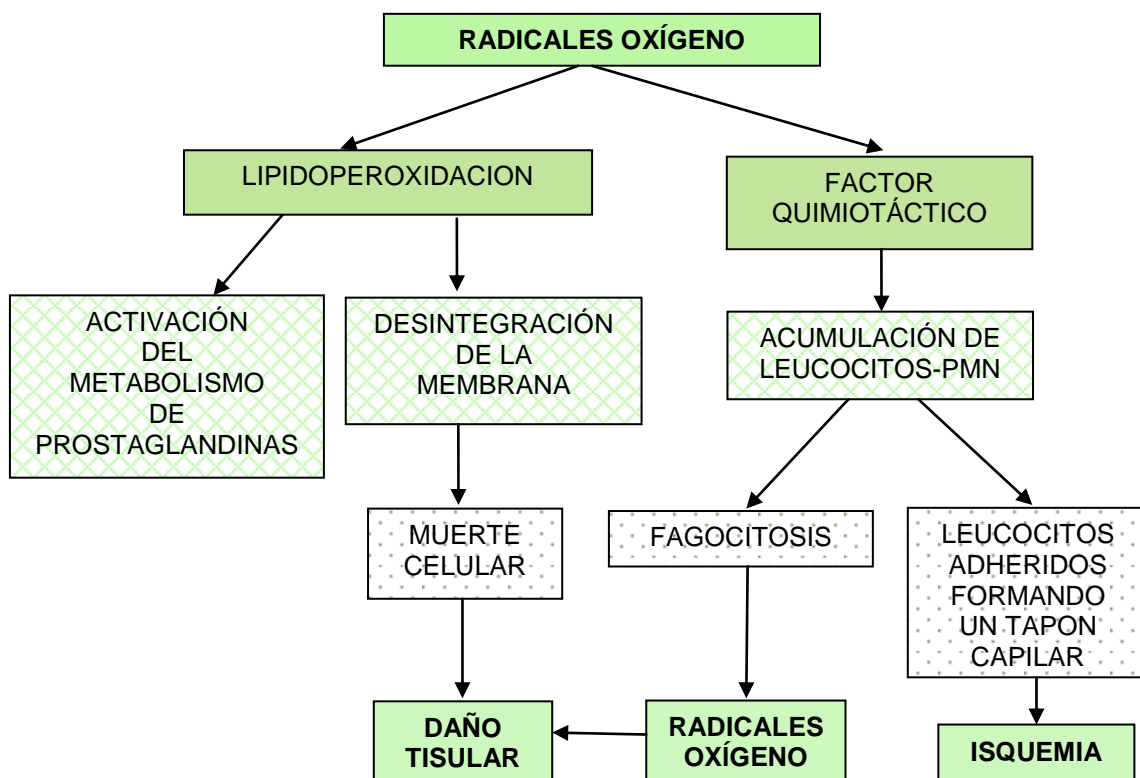


Figura 2. Efectos directos e indirectos de los radicales libres de oxígeno en el tejido ⁽⁶²⁾

❖ Proteínas proinflamatorias

Existe cierta evidencia que la IRI es un factor envuelto en la síntesis de proteínas proinflamatorias como el factor nuclear kappa-B (NF- κ B), el cual induce la expresión de adhesinas como la ICAM-1 (molécula de adhesión intercelular) ó VCAM-1 (proteína de adhesión vascular), el TLR4 (Toll-like receptor 4) ⁽⁶⁷⁾, factores de necrosis tumoral como TNF- α o TNF- β ,

interleucinas, quimioquinas y enzimas como la ciclooxigenasa-2 ⁽⁶⁸⁾. Las quimioquinas son citoquinas quimiotácticas que regulan la activación, diferenciación y migración de los leucocitos mediante la unión a receptores específicos de membrana de diferentes células diana. Juegan un papel importante en una gran variedad de procesos inflamatorios, como el asma, la enfermedad inflamatoria intestinal o distintas enfermedades infecciosas. La eficacia terapéutica potencial de actuación sobre sus receptores ha sido experimentada con diferentes antagonistas, como el denominado CCR5/CXCR3 ⁽⁶⁹⁾.

❖ **Proteínas de choque térmico (“heat shock proteins” -hsp-)**

Constituyen proteínas de estrés intracelular que se acumulan tras la isquemia. El mecanismo para su protección al daño isquémico, es la inhibición del leucotrieno-B4 y la prevención subsecuente de la activación de los neutrófilos y la quimiotaxis ⁽⁷⁰⁾. De tal forma, la inducción de la hsp-73 disminuye los niveles en plasma de IL-8 y TNF α durante el periodo de IRI en la rata ⁽⁷¹⁾.

❖ **Endotelinas**

Son péptidos vasoconstrictores derivados del endotelio vascular ⁽⁷²⁾. Los antagonistas de los receptores de las endotelinas inducen una protección significativa contra la IRI, siendo sus máximos beneficios la disminución en las lesiones de la mucosa, un incremento en el flujo sanguíneo, un incremento en el ATP de la mucosa y una disminución de la adhesión leucocitaria ^(73,74,75).

❖ **Complemento**

Varios estudios han sugerido que el sistema del complemento juega un papel importante en la lesión intestinal por isquemia-reperusión ^(76,77,78). La activación de la cascada del complemento provoca una serie de eventos inflamatorios potentes, incluyendo la expresión del gen ICAM-1 y la

sobreexpresión de citoquinas inflamatorias como el TNF α e interleucinas (IL-1 α)⁽⁷⁸⁾.

❖ Hemo oxigenasa (HO)

El sistema HO fue reconocido como la enzima responsable del catabolismo hemo, abriendo su estructura de anillo tetrapírol para producir CO, biliverdina y hierro libre⁽⁷⁹⁾.

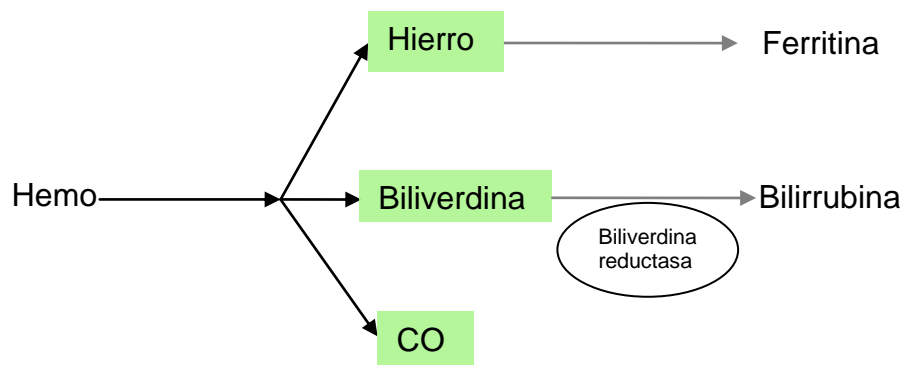


Figura 3. Sistema Hemo Oxigenasa

Se han identificado tres isoformas hemo oxigenasa: HO-1 inducible, también conocida como proteína “heat shock” 32, constitutivamente expresada HO-2 y una menos conocida HO-3⁽⁸⁰⁾.

En condiciones normales, la HO-2 es la isoforma mayor encontrada en los tejidos de los mamíferos. La sobrerregulación de HO-1 puede ser uno de los mecanismos citoprotectores más críticos que se activan en momentos de estrés celular y se cree que juega un papel principal en mantener la homeostasis oxidante y antioxidante durante el tiempo de lesión celular^(81,82).

Posee cuatro efectos beneficiosos: función antioxidante, mantenimiento de la microcirculación, citoprotección y función antiinflamatoria^(80,83).

❖ Hierro

Durante la isquemia, metabolitos como el ácido láctico se acumulan y el pH intracelular cae. Este descenso provoca la desestabilización de la membrana lisosomal, activa las enzimas líticas lisosomales, inhibiendo la unión de los metales transicionales como el hierro a sus proteínas transportadoras (transferrina y ferritina), resultando un incremento del hierro libre intracelular (Fe^{2+}), lo que a su vez acelera la formación de radicales libres en la siguiente reacción ⁽⁸⁴⁾ (figura 4):

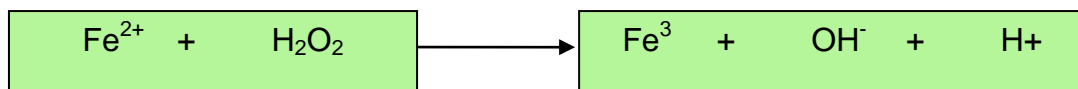


Figura 4. Reacción de Haber-Weiss ⁽⁸⁴⁾

1.2.5 Estrategias de protección frente a la isquemia-reperfusión intestinal

❖ Precondicionamiento isquémico

Es un fenómeno por el que los tejidos expuestos a cortos períodos de isquemia reciben una relativa protección ante una isquemia más prolongada.

En 1986, Murry et al. ⁽⁸⁵⁾ introdujeron la primera definición de precondicionamiento isquémico, en el cual breves periodos repetidos de isquemia protegen el miocardio de un subsiguiente período mayor de lesión isquémica que causa lesión irreversible.

Hotter et al. en 1996 ⁽⁸⁶⁾ fueron los primeros en describirlo a nivel intestinal, aunque no se ha constituido ningún protocolo del número de ciclos necesarios ni la duración exacta de los períodos de isquemia para lograr su beneficioso efecto.

El precondicionamiento isquémico ha sido estudiado como una estrategia protectora contra la isquemia-reperfusión intestinal en modelos intestinales.

En humanos, la isquemia yeyunal prolongada (45 minutos) seguida por reperfusión resulta en pérdida de la integridad de la barrera intestinal que se acompaña por una translocación significativa de endotoxinas. Este fenómeno resulta en una respuesta inflamatoria que es caracterizada por activación del complemento, activación endotelial, secuestro de neutrófilos y la liberación de mediadores proinflamatorios dentro de la circulación ⁽⁸⁷⁾.

Sus efectos se diferencian en dos fases:

- Fase precoz, temprana o preconditionamiento clásico: inmediato a la isquemia y dura 2-3 horas. Modulación directa de funciones celulares específicas.
- Fase tardía o preconditionamiento tardío: comienza a las 12-24 horas y tiene una duración de 3-4 días. Activación de genes con síntesis de nuevas proteínas.

Varios efectos están implicados en su utilización: disminución de la translocación bacteriana, antiapoptosis, metabolismo de adenosina, xantina, óxido nítrico y radicales libres ⁽⁸⁸⁾.

Por otro lado, el preconditionamiento isquémico aumenta la actividad de las células madre intestinales en las criptas intestinales en los días 1 y 2 después de la cirugía. Por tanto, las actividad de las células madre intestinales estimuladas por el preconditionamiento isquémico tienen el potencial de mejorar la regeneración y reparar la mucosa intestinal después de la IRI ⁽⁸⁹⁾.

❖ **Postcondicionamiento isquémico**

Consiste en uno o más ciclos cortos de reperfusión seguido por uno o más ciclos cortos de isquemia, inmediatamente después de la isquemia y antes de empezar la reperfusión permanente. Este hecho puede conferir una protección de órganos comparable al preconditionamiento isquémico. Consecuentemente se demostró que el postcondicionamiento isquémico

atenúa la lesión intestinal, como se evidencia por la disminución en la puntuación de Chiu ⁽⁹⁰⁾.

Aunque todavía no se conocen los mecanismos protectores del postcondicionamiento isquémico, los que se han identificado incluyen protección de la integridad mitocondrial vía regulación de los poros de transición de la permeabilidad mitocondrial, reducción de la sensibilidad a la mayor sobrecarga de calcio intracelular y restauración de la vaso-relajación mediada por el óxido nítrico ^(91,92,93).

Algunos estudios sugieren que el número de ciclos de postcondicionamiento isquémico es más importante que su duración. De acuerdo con esto, en un estudio ⁽⁹⁴⁾ se concluyó que el número de ciclos de postcondicionamiento de 3 a 6 aumenta su eficacia al reducir la generación de oxidantes mesentéricos, la peroxidación lipídica y acumulación de neutrófilos.

Hay un estudio ⁽⁹⁰⁾ que encuentra que el postcondicionamiento isquémico atenúa la apoptosis de las células de la mucosa intestinal, al abolir los fenómenos fisiopatológicos incluidos en IRI.

También se ha visto que el postcondicionamiento mejoró significativamente la microcirculación y proporcionó protección local de acuerdo a la eficacia del algoritmo postisquémico aplicado. Los resultados sugieren además, que en un modelo animal pequeño de oclusión de la arteria mesentérica superior, los algoritmos postcondicionamiento más dinámicos consistentes en ciclos más cortos pueden conferir una protección más efectiva contra el daño por isquemia-reperfusión ⁽⁹⁵⁾.

El postcondicionamiento disminuye la producción de especies reactivas de oxígeno y fue asociado con un cuadro histopatológico más leve ⁽⁹⁶⁾.

❖ **Antioxidantes**

El cuerpo humano produce de forma endógena antioxidantes naturales, pero los cuales, no son capaces de procurar una protección adecuada durante la

IRI. Poseen efectos de disminución del estrés oxidativo, la peroxidación lipídica, la infiltración de neutrófilos, neutralización de radicales libres, anti-apoptosis, anticitoquinas, expresión de iNOS y de hemo-oxigenasa, así como inhibición de TNF α ⁽⁸⁸⁾.

❖ **Perfluorocarbonos**

Son moléculas hidrocarbonadas, en las que átomos de hidrógeno son reemplazados por flúor. Pueden disolver 20-25 veces más oxígeno que el plasma a temperatura ambiental y su resultado es la liberación de este oxígeno en los tejidos. La administración intraluminal de perfluorocarbonos oxigenados preserva la función y la integridad de la mucosa en el síndrome de IRI ⁽⁹⁷⁾.

❖ **Terapia anti-leucocítica**

Existen tres grandes estrategias terapéuticas para el tratamiento del daño mediado por los leucocitos durante la IRI:

1. Inhibición de la activación leucocitaria.

La activación de los leucocitos durante la IRI se produce gracias a la liberación de mediadores inflamatorios como el leucotrieno-B4 (LT-B4), el factor de activación plaquetaria (PAF) y el TNF α . El uso de antagonistas de LT-B4 ⁽⁹⁸⁾, antagonistas del PAF ^(99,100) y del TNF α ⁽¹⁰¹⁾, disminuyen la activación leucocitaria durante la IRI.

2. Inhibición de la síntesis de moléculas de adhesión leucocitaria.

La regulación de factores de transcripción como el NF- κ B, son el mecanismo de acción de terapias como la hormona estimuladora de α -melanocito ⁽¹⁰²⁾, la dehidroximetilpoxiquinomicin ⁽¹⁰³⁾, el FK506 ⁽¹⁰⁴⁾ o el mesna ⁽¹⁰⁵⁾.

3. Inhibición de la adhesión endotelial leucocitaria.

El empleo de alopurinol ⁽¹⁰⁶⁾ y de bloqueantes del receptor de endotelina ⁽⁷⁵⁾ favorecen la recuperación tras la IRI disminuyendo la adhesión leucocitaria.

❖ **Terapia anti-complemento**

La administración del antagonista del receptor del complemento C5a protege al intestino del daño de la IRI, inhibe la expresión de TNF α y disminuye la infiltración de neutrófilos, tanto a nivel intestinal como pulmonar ^(77,107). El empleo intravenoso de un inhibidor del receptor soluble del complemento 1, reduce la permeabilidad vascular intestinal e incrementa la supervivencia ⁽¹⁰⁸⁾.

❖ **Nutrición enteral**

La nutrición enteral mantiene la inmunidad de la mucosa y la resistencia a las infecciones. La falta de alimentación enteral altera los niveles de IL-4 e IL-10; éstos inhiben la expresión endotelial de ICAM-1, la cual provoca la atracción de neutrófilos PMN ⁽¹⁰⁹⁾.

❖ **Suplementación de óxido nítrico**

El empleo de donantes de óxido nítrico como el FK-409 ⁽¹¹⁰⁾ o incluso la administración intraluminal de óxido nítrico, disminuyen el daño en la IRI. El uso de inhibidores selectivos de iNOS (estrógeno⁽¹¹¹⁾), o de preservadores de la eNOS (rosuvastatina⁽¹¹²⁾), protegen a la mucosa intestinal, disminuyendo las citoquinas atrayentes de neutrófilos y los niveles de TNF α .

❖ **Suplementación de glutamina**

La glutamina es un aminoácido no esencial, el más abundante en plasma y músculo esquelético en condiciones fisiológicas, pero sus niveles caen sustancialmente tras un traumatismo de cualquier etiología. Varios estudios han demostrado que nutrición enteral con suplementos de L-glutamina y dipéptido de glutamina, disminuyen la translocación bacteriana y la

permeabilidad intestinal, mejorando la absorción de nutrientes, disminuyendo la expresión de ICAM-1 y la adhesión de neutrófilos e incluso incrementa la expresión de heat shock proteins ⁽¹¹³⁻¹¹⁵⁾. En administraciones intravenosas incrementa la hemo-oxigenasa 1 y diversos antioxidantes, disminuyendo los niveles de TNF α intestinales, además de la peroxidación lipídica de la membrana celular ^(116,117).

❖ **Suplementación de glicina**

La L-glicina es un aminoácido no esencial que con su administración como suplementación de nutrición enteral, protege el intestino del síndrome de IRI con funciones antiinflamatorias, inmunomoduladoras, de reducción de la translocación bacteriana y la formación de radicales libres, así como de citoprotección ^(118,119).

1.2.6 Histología de la isquemia-reperfusión intestinal

Refiriéndose exclusivamente a las lesiones provocadas por isquemia aguda y completa, se pueden dividir las alteraciones en la histología en dos fases:

- lesiones debidas a la isquemia
- lesiones debidas a la reperfusión.

1.2.6A Lesiones debidas a la isquemia

El intestino delgado a pesar de que el epitelio de las vellosidades está capacitado para la glicolisis anaerobia, es muy sensible a la isquemia, apareciendo cambios en el aspecto de la pared con microscopía óptica en sólo 15-20 minutos de isquemia ^(18,120). Como en todo tejido, la falta de riego sanguíneo al intestino delgado, si se mantiene el tiempo suficiente, lleva a necrosis celular que afecta a toda la pared intestinal, conociéndose como infarto transmural. La evolución de éste en el tiempo es progresiva desde las capas más cercanas a la luz a las más superficiales ⁽¹²¹⁾.

La necrosis isquémica del intestino delgado cumple las características del infarto hemorrágico ⁽¹²²⁾, que es aquel que se produce en tejidos laxos, en órganos con doble circulación o en tejidos previamente congestivos o cuando la obstrucción vascular es venosa. Son típicos en pulmón, intestino y cerebro. Nos interesan las isquemias que van a lesionar sólo las capas más internas de la pared (mucosa y submucosa) y que van a conseguir una recuperación completa con los procesos de regeneración celular. El tiempo límite de isquemia para que aparezcan lesiones que puedan considerarse irreversibles es de unas tres horas ⁽¹²¹⁾.

Las alteraciones vasculares intestinales no pueden equipararse a las de otros órganos, por las peculiaridades estructurales especiales que ofrecen y les dan su propio contenido ⁽¹²³⁾. Si en general, la gravedad de un trastorno vascular depende de varios factores, como la sensibilidad tisular a la anoxia, capacidad regenerativa de los tejidos, forma de instauración del trastorno vascular entre otros; en el intestino, la circulación mesentérica establece un índice de mayor variabilidad, por cuanto está regulada por complejos mecanismos centrales y periféricos. Por otra parte, las enfermedades isquémicas del intestino comprenden un amplio espectro de cambios anatomopatológicos, con afectación mayor o menor en dependencia con el grado de isquemia y de la invasión bacteriana por ruptura de la barrera epitelial ^(124,125). Pero, además de esta dependencia multifactorial en los estudios experimentales, consideramos que pueden intervenir el tipo de animal utilizado y el procedimiento quirúrgico empleado.

Chiu et al. ⁽¹⁸⁾ describieron los distintos grados de afectación de la mucosa tras la isquemia en función del tiempo. Park et al. ⁽¹²¹⁾, ampliaron esta clasificación a 8 grados que van desde una mucosa normal (grado 0) a infarto transmural (grado 8), realizando la isquemia mediante un manguito de presión hidrostático alrededor del mesenterio, así como sobre el asa intestinal aferente y eferente, provocando preferentemente una oclusión venosa o estrangulación. Wagner et al. ⁽¹²⁶⁾ realizaron la descripción más

detallada de la lesión, desde tiempos de isquemia muy breves (15 minutos), hasta cuando las lesiones se hacen ya irreversibles (300 minutos). Por su parte Boros et al. ⁽¹²⁷⁾, establecieron los cambios histológicos que siguen a periodos de 15, 30 ó 60 minutos de isquemia, seguidos de 30 minutos de reperfusión, prestando gran interés a las alteraciones microvasculares.

El daño tisular tras establecer el período de isquemia, comienza en el extremo de la vellosidad, extendiéndose a los tejidos circundantes durante la reperfusión. De tal forma, la mitad de las alteraciones histológicas provocadas durante periodos de isquemia cortos pueden ser achacables a la isquemia y la otra mitad a la reperfusión ⁽¹²⁷⁾ (Tabla 2).

Tabla 2. Efecto de la isquemia e isquemia-reperfusión sobre el grosor de la mucosa intestinal ⁽¹²⁷⁾

	Disminución del valor medio del grosor de la mucosa (mm)	Disminución del valor medio del grosor de la mucosa (mm) tras 30' de reperfusión	% de la reducción del grosor de la mucosa debida a la reperfusión tras 30' de reperfusión
Isquemia 15'	0.31±0.04	0.24±0.01	75%
Isquemia 30'	0.26±0.03	0.21±0.03	40%
Isquemia 60'	0.21±0.03	0.14±0.03	38%

- Aspecto macroscópico.

Durante unos breves instantes tras la oclusión vascular, el intestino aparece con una débil palidez transitoria, pierde su brillo y se edematiza ^(120,128,129,130). A los 30 minutos el asa afectada es de un color rojo cereza y se diferencia claramente del tejido normal, aumentando estas diferencias al cabo de 60

minutos ⁽¹³⁰⁾. Dos horas después de la oclusión vascular, el asa está dilatada y con un color rojo hemorrágico. Tras 5 horas de isquemia, la pared intestinal aparece de color negruzco y está muy dilatada. En la luz intestinal se encuentra un líquido serosanguinolento ⁽¹²⁸⁾.

- Aspecto microscópico.

Las alteraciones microscópicas de la pared intestinal han sido estudiadas por Haith et al. ⁽¹³¹⁾, pudiéndose comprobar una correlación entre el tiempo de duración de la isquemia y la topografía de las lesiones, observando que la lesión avanza desde la luz hacia la superficie externa, siendo la capa mucosa la más precoz e intensamente afectada.

a) 15 minutos de isquemia.

El intestino conserva todavía un aspecto histológico casi normal. En el vértice de las vellosidades aparece una separación llena de ampollas entre la base del epitelio y la membrana basal (el llamado espacio de Grünhagen). Estas pequeñas burbujas de aspecto claro, en algunas vellosidades, están pasando a la luz intestinal a través de aperturas entre la células epiteliales. Estas burbujas se originan desde la cara basal del epitelio. Previo a la aparición de este espacio subepitelial, se distiende el espacio epitelial lateral, el espacio entre dos células contiguas que queda entre los complejos de unión por encima y la membrana basal por debajo. Esta acumulación de fluido entre dos células hace que la base de las células epiteliales aparezca delgada y elongada, hasta que llega un momento en que el cúmulo de líquido hace que se desprege la célula epitelial y así se forma el espacio subepitelial. Esta fase correspondería al grado 1 de Chiu.

b) 30 minutos de isquemia.

Se observa la separación del epitelio en todo el tercio superior de la vellosidad. Por debajo se ven burbujas de distinto tamaño, pasando algunas a la luz intestinal. Las células epiteliales conservan un aspecto normal, con

un borde en cepillo y una membrana de superficie intactas ⁽⁶¹⁾. Además conservan funciones bioquímicas relativamente intactas. Se cree que el cúmulo del líquido que provoca la aparición del espacio subepitelial y posteriormente el despegamiento del epitelio provenga, al menos en parte, de la luz intestinal. La célula epitelial intacta sería capaz de seguir absorbiendo desde la luz intestinal, pero el material absorbido no se podría retirar por el éstasis capilar secundario a la isquemia, por lo que quedaría acumulado por debajo de la célula epitelial, entre ésta y la membrana basal. La lesión descrita corresponde al grado 2 de Chiu.

c) 60 minutos de isquemia.

La separación del epitelio afecta los dos tercios superiores de la vellosidad y en la base de las mismas se inicia el despegamiento del epitelio, también por formación de burbujas desde la base de las células epiteliales. El estroma de las vellosidades aparece necrótico y en el vértice de la vellosidad se halla infiltrado por eritrocitos que vienen de los capilares lesionados. El estroma necrótico se mantiene unido por la membrana basal del epitelio que se mantiene intacta. Las criptas en esta fase no muestran todavía alteraciones. Corresponde al grado 3 de Chiu ⁽¹²⁶⁾.

d) 120 minutos de isquemia.

Las vellosidades aparecen completamente desnudas por separación del epitelio que rodea a toda la vellosidad, pero siempre mantienen su estructura por conservación de la membrana basal, excepto en el extremo de la vellosidad, que aparecen completamente destruidas. El citoplasma de las células epiteliales desprendidas hacia la luz, se hincha y sólo en algunos sitios se pierde el borde en cepillo. En la mayoría, se conserva intacto junto con la membrana de superficie, incluidas las funciones enzimáticas de la misma ⁽¹²⁶⁾. Esto se corresponde con el patrón de necrosis celular típico de todos los infartos, excepto los cerebrales, que es la necrosis isquémica coagulativa de las células afectadas. Típicamente aparece una pérdida del

núcleo de la célula con preservación de los contornos celulares y de la arquitectura tisular ⁽⁶¹⁾. Este patrón se debe a la desnaturalización de las proteínas estructurales, pero sobre todo, de las enzimas, con lo que se bloquea la proteólisis de la célula ⁽¹³²⁾. Parece que el proceso de lesión por isquemia se basa en el despegamiento del epitelio de la mucosa por formación de burbujas desde la parte basal de las células epiteliales. Este proceso sería progresivo desde la punta de la vellosidad hasta la base. Se cree que esta separación descendente, se debe a la menor resistencia a la isquemia de las células más viejas, siendo por otra parte, el vértice de la vellosidad la zona peor vascularizada durante la isquemia ⁽¹³³⁾.

El epitelio de las criptas presenta burbujas en su interior, alguna de las cuales estaría abierta a la luz de las criptas. Aparecen también algunas burbujas entre el epitelio y la membrana basal, pero aquí no producen el despegamiento del epitelio como en las vellosidades. El citoplasma de las células epiteliales de la parte alta de las criptas aparece hinchado. Las mitosis son muy raras y sólo se ven en el tercio inferior de las criptas. La muscularis mucosae está todavía completamente intacta. El grado 4 de Chiu correspondería a la aparición de las vellosidades completamente desnudas, en el grado 5 habría pérdida de la vellosidad con digestión y ulceración de zonas de la lámina propia en las vellosidades y en el grado 6 de Park, lesión de la pared de las criptas ⁽¹⁸⁾.

e) 300 minutos de isquemia.

La mucosa está casi completamente infartada. Ocasionalmente se reconocen parte de las vellosidades y de las criptas, completamente desnudas de epitelio. La muscularis mucosae y partes de la submucosa y de la capa muscular aparecen necróticas. El grado 7 de Park sería la necrosis completa de la mucosa y el grado 8 de Park correspondería al infarto transmural ⁽¹²¹⁾.

f) Isquemias más prolongadas.

Tras la afectación de la mucosa y la submucosa, se afecta la capa muscular cuya primera lesión es una pérdida del núcleo celular. Luego hay lisis celular con separación y adelgazamiento de fibras y aparece un infiltrado inflamatorio afectando a los restos de mucosa y de capa muscular. La mucosa está completamente desintegrada con esfacelos y ulceraciones macroscópicas en la misma. Finalmente, aparecen zonas de necrosis en la capa muscular y serosa con posibilidad de perforación intestinal.

1.2.6B Lesiones debidas a la reperfusión

El daño observado tras tres horas de isquemia y después de una hora de reperfusión es más severo que el observado tras cuatro horas de isquemia aislada. Estos resultados demuestran que el daño provocado por la reperfusión puede ser más grave que el daño producido por la isquemia per se. Este hecho implica cierta reacción iniciada por el retorno de sangre oxigenada al tejido isquémico como consecuencia de la lesión inducida por la reperfusión ⁽⁶⁵⁾; ello es debido a que a las lesiones de la isquemia hay que sumarle las secuelas de la isquemia previa y el aflujo de sangre a unos capilares dañados ⁽¹³⁴⁾.

El proceso de regeneración intestinal tras isquemia en ratas es rápido y efectivo ⁽¹³³⁾. En otros animales de experimentación como el gato, la reparación de las lesiones es más lenta ⁽¹³⁰⁾. A pesar de la rapidez del proceso, algunos estudios indican que el tiempo de reparación es más prolongado cuanto mayor ha sido el tiempo de isquemia. Para isquemias breves (30 minutos), a las 12 horas la recuperación de la mucosa es casi completa ⁽¹³³⁾. En cualquier caso, la regeneración, demostrada como formación de criptas y vellosidades, es evidente a los 2 días en todos los grupos de isquemia.

El mecanismo de reparación consiste en la migración de las células que rodean a los focos de necrosis, sin producirse un aumento en el número de

mitosis. Las células absortivas que rodean el foco de despegamiento van a cambiar su forma, haciéndose aplanadas y mandan proyecciones celulares por encima de la membrana basal desnuda. Al contactar, las células que vienen de un lado y de otro se ensamblan desapareciendo así el defecto ⁽¹³⁰⁾.

Después de una adecuada resucitación, la mucosa del intestino delgado se recupera rápidamente y el tipo de lesión superficial visto se cura en 6-18 horas, si la mucosa es adecuadamente oxigenada ⁽¹³⁵⁾.

Gabbert et al. ⁽¹²⁶⁾, hicieron una descripción detallada del proceso de regeneración intestinal en función de los días, para una isquemia aguda de dos horas.

- Aspecto macroscópico.

A las 12 horas de restauración del flujo, el intestino todavía permanece dilatado y de color rojo cereza. En la luz intestinal aparece sangre digerida, que generalmente ya ha emigrado hacia regiones más distales del intestino delgado. Algunas asas intestinales presentan adherencias. Tras 24 horas, el asa isquémica ya no se distingue, en su color, del intestino normal. La dilatación ya ha desaparecido aunque aparecen adherencias mayores entre asas. La sangre de la luz aparece ahora en el ciego y el colon. Tras 3 días, y prácticamente en todos los casos tras una semana, sólo persisten algunas adherencias entre asas intestinales, el epiplón o la pared intestinal.

- Aspecto microscópico.

a) 1 hora de reperfusión.

Tras una hora de reperfusión, las alteraciones en la pared son similares a las que se producen sólo con la isquemia. En todo caso, aparece un aumento de las lesiones atribuibles al mecanismo de lesión por reperfusión. El momento en que aparece este aumento de las lesiones depende del tiempo de isquemia sufrido. En todos los casos aparece algo después de iniciada la

reperusión, no justamente tras la isquemia (concepto de lesión por reperusión). Cuanto menos tiempo dura la isquemia, antes aparece el pico de lesión máxima al iniciarse la reperusión. Así Udassin et al. ⁽¹³³⁾, para una isquemia de 30 minutos encuentran el momento de máxima lesión a los 10 minutos de iniciada la revascularización, mientras que Gabbert et al. ⁽¹²⁶⁾, en una isquemia de dos horas, encuentran la máxima lesión al cabo de 1 hora de reperusión. Sólo la parte inferior de las criptas permanece íntegra. Las vellosidades intestinales aparecen necróticas y en muchos casos desprendidas a la luz intestinal ⁽⁶¹⁾. La preservación del epitelio basal de las criptas es fundamental en el proceso de reparación, ya que la renovación del epitelio se produce desde estas células de la base de la cripta. Hay dilatación de los capilares apareciendo PMN en su luz y algunos emigrados al tejido conectivo adyacente.

b) 12 horas de reperusión.

La mucosa continúa siendo delgada, observándose todavía algunas vellosidades necróticas. La mayoría de las criptas tienen un epitelio plano o cuboidal, en lugar del epitelio columnar normal ^(18,126,130). Las células que rodean el foco de despegamiento epitelial van a cambiar de forma, haciéndose planas y mandando proyecciones celulares por encima de la membrana basal desnuda. Al contactar las células que vienen de un lado y otro para cubrir la zona desnuda, se ensamblan y desaparece el defecto ⁽¹³⁰⁾. La superficie de la mucosa se cubre así por células epiteliales planas que empujan los restos del epitelio necrótico hacia el vértice de la vellosidad. La reparación del epitelio es favorecida por la contracción de las vellosidades a través de un mecanismo energía-dependiente. Al contraerse, se minimiza el área desnuda, favoreciendo así su reepitelización ⁽¹³³⁾. Las nuevas células epiteliales, presentan en su vértice, gotitas de material lipídico que se atribuye a una incapacidad de estas células epiteliales inmaduras para formar quilomicrones, quedando así almacenados los lípidos absorbidos de la luz intestinal. Aún no aparece borde en cepillo ni cubierta de superficie. No

se observa membrana basal al microscopio óptico, ni en las criptas, ni en las vellosidades. El estroma de la lámina propia, aparece con una importante desintegración edematosa y hay infiltrado de granulocitos y macrófagos, sobre todo alrededor de los capilares ⁽¹²⁶⁾. La red capilar todavía no aparece completamente desarrollada en la región del nuevo epitelio plano y está completamente ausente en las zonas de las vellosidades necróticas.

c) 24 horas de reperfusión.

Veinticuatro horas después de la restauración del flujo, la región de las criptas todavía no ha recuperado su grosor normal. Las criptas aparecen estrechas y separadas una de otra. Presentan un epitelio columnar o cuboidal. En la mitad superior de las criptas y en la base de las vellosidades, aparecen muchas células productoras de mucina muy cargadas. Aparecen cortas vellosidades regenerativas con un epitelio en su mayoría columnar y sólo en el vértice de la vellosidad sigue siendo todavía cuboidal. La relación altura de la vellosidad/profundidad de la cripta es de 1:2 en este período. El epitelio presenta un denso borde en cepillo y una cubierta de superficie delgada. El estroma de la lámina propia permanece edematoso y con infiltrado de PMN y macrófagos ⁽¹²⁶⁾. Aparece la membrana basal que es discontinua y más gruesa de lo normal ⁽⁶¹⁾. En este momento, Cameron et al. ⁽¹³⁰⁾, han encontrado dilatación de los linfáticos de la vellosidad con restos necróticos en su interior.

d) 3 días de reperfusión.

A los tres días, la pared ya tiene un aspecto casi normal ⁽¹³⁰⁾. Las criptas aparecen ya más juntas. La profundidad de las criptas es mucho mayor de lo normal. Las vellosidades aparecen también más juntas y también con mayor altura de lo normal aunque su crecimiento no es proporcionalmente tan importante como el de las criptas, siendo en este periodo la relación altura de las vellosidades/profundidad de las criptas 1:1. El epitelio de las vellosidades de las criptas es de tipo columnar con borde en cepillo y

cubierta de superficie normales. La membrana basal también es normal en vellosidades y criptas. Aparece una densa red de capilares en el estroma de las vellosidades ⁽¹²⁶⁾.

e) A la semana de la reperfusión.

La mucosa es normal, aunque persiste el aumento de altura de las vellosidades y de profundidad de las criptas. Sin embargo en este momento la relación entre ambos ya es normal 2:1. Todos los trabajos dan una recuperación completa de la mucosa al séptimo u octavo día, independientemente del tiempo de isquemia sufrido siempre que éste haya sido reversible ^(126, 130).

1.3 Modelo experimental

1.3.1 Características anatómica de la rata ⁽¹³⁶⁾

El intestino delgado posee una longitud total que varía desde los 107 cm en ratas de 5 meses a 122 cm en ratas de un año. Se divide en tres partes: duodeno, yeyuno y el íleon.

El duodeno corre hacia el riñón derecho (parte descendente), continua hacia la línea media (flexura caudal del duodeno) y luego gira cranealmente (parte ascendente). Contiene la papila duodenal, un área elevada donde el conducto hepático drena. El yeyuno forma la parte más larga del intestino, forma largos lazos rellenando la parte ventral derecha del abdomen. El íleon se conecta con la base del ciego, cerca del comienzo del colon.

1.3.2 Características histológicas de la rata ⁽¹³⁷⁾

En las ratas, el epitelio del intestino delgado se diferencia, de una manera dependiente de la migración, en cuatro líneas. Cada una produce productos genéticos característicos y estructuras celulares típicas para su función ⁽¹³⁸⁾. Los enterocitos producen hidrolasas en el borde de las vellosidades y las células de Paneth lisozima, criptidinas y defensinas; las células caliciformes secretan mucina y péptidos y las células enterocromafines secretan cromafinas. En el adulto, las células epiteliales de la cripta intestinal se dividen cada 10 +/- 14 horas. El tiempo celular de tránsito desde la cripta al final de la vellosidad es 48 horas. La célula de Paneth es reemplazada aproximadamente cada 4 semanas pero permanece en la base de la cripta. Esta célula produce lisozima, la cual puede regular la microflora intestinal. Las células epiteliales normales de la rata se diferencian según migran a lo largo de la superficie de las vellosidades. En el adulto joven, sin embargo los enterocitos se diferencian más despacio en comparación con las ratas añosas. La masa de la mucosa es más alta en el íleon de las ratas con más

años. Ésta puede ser hipertrofiada como respuesta a la disminución de la eficiencia epitelial.

Las glándulas de Brunner son interesantes porque solo las poseen los mamíferos. Una de sus funciones es la secreción de moco. Las glándulas secretan un fluido alcalino que contiene mucina. La mucina protege el epitelio gástrico y la mucosa duodenal proximal manteniendo un gradiente favorable de pH y protegiendo de la autodigestión. Ellas también secretan bicarbonato y el factor de crecimiento epidérmico. Las ratas tienen glándulas de Brunner sólo en la porción proximal del duodeno ⁽¹³⁹⁾.

El porcentaje de producción celular en las criptas de Lieberkühn a lo largo de la longitud del intestino delgado es relativamente constante, sobre 36 células por cripta. La relación cripta/vellosidad disminuye desde 27 en el duodeno a 10 en el íleon terminal ⁽¹⁴⁰⁾.

La mayoría de los nutrientes son absorbidos a través de los extremos de las células epiteliales del intestino delgado. Estos extremos miran a la luz. Una sobresaliente especialización de la superficie apical de cada célula epitelial es el gran número de microvilli, proyecciones externas desde el borde superficial con variedad en cantidad y densidad. Los microvilli, o también conocido “borde en cepillo”, aumentan el área de superficie para el importante transporte y actividad enzimática que ocurre en su superficie. Cada microvilli se rellena de filamentos de actina que forman en su base una red denominada la “red terminal”.

La longitud y el área de la superficie de absorción del intestino están bien documentados. La rata joven, la más usada en estudios de absorción y nutrición, tiene una mucosa con un área por unidad de longitud intestinal alrededor de 2:1 ^(141,142).

Los monosacáridos glucosa, galactosa y fructosa son absorbidos por el intestino vía translocadores específicos tras la digestión de carbohidratos ingeridos ⁽¹⁴³⁾. La glucosa y la galactosa son absorbidas gracias a un

cotransportador-1 sodio-dependiente de glucosa y la fructosa por el transportador- 5 sodio-independiente de glucosa. Ambos están localizados en la membrana plasmática apical del enterocito maduro. En la membrana basolateral de los enterocitos, los tres carbohidratos comparten el mismo translocador y entran en la circulación a través de la vía del transportador-2 sodio-independiente de glucosa.

La capacidad absorbiva para carbohidratos no es constante. Responde a largos cambios en las condiciones fisiológicas. Comúnmente, los cambios en el transporte intestinal de glucosa se producen a través de la modulación de las concentraciones del cotransportador-1 de glucosa sodio-dependiente y del transportador-5 de glucosa sodio-independiente ⁽¹⁴³⁾.

El transporte de péptidos intactos y proteínas desde la luz intestinal a la sangre se diferencia del proceso normal de digestión y absorción. La absorción intestinal de mínimas cantidades de proteínas es un proceso fisiológico de rutina ⁽¹⁴⁴⁾.

Los aminoácidos son absorbidos principalmente en el epitelio yeyunal ⁽¹⁴⁵⁾. Hay cuatro sistemas de transporte de la membrana plasmática para los aminoácidos catiónicos: uno es específico para los aminoácidos catiónicos. El resto de aminoácidos son absorbidos por el transportador de aminoácidos de amplia especificidad.

La absorción de grasa tiene una tasa máxima en el yeyuno a través de los lactíferos ubicados dentro de las microvellosidades del borde en cepillo ⁽¹⁴⁶⁾. Los puntos principales de la absorción intestinal de las vitaminas y minerales es revisada por Thomson et al. en 2001 ⁽¹⁴⁷⁾.

1.3.3 Supervivencia de la rata a la isquemia intestinal

Según el estudio de Hei et al. de 2008 ⁽¹⁴⁸⁾, a la semana sobreviven entre el 83.3% y el 75% de las ratas sometidas a 60 minutos de isquemia, entre el 50% y el 41.6% de 75 minutos de isquemia, entre el 33.3% y el 16.7% tras

90 minutos de isquemia y entre el 16.7 y el 0% para 120 minutos de isquemia. La supervivencia a los tres días para isquemias de 60, 75, 90 y 120 minutos son 83.3%, 41.6%, 25% y 0%, respectivamente. Casi ningún animal fallece entre el cuarto y séptimo día tras la reperfusión.

1.4 Ácido acetilsalicílico (Inyesprin®)

El nombre sistemático es ácido-2-(acetiloxi)-benzoico. La fórmula química del ácido acetilsalicílico (AAS) es C₉H₈O₄ (Figura 5).

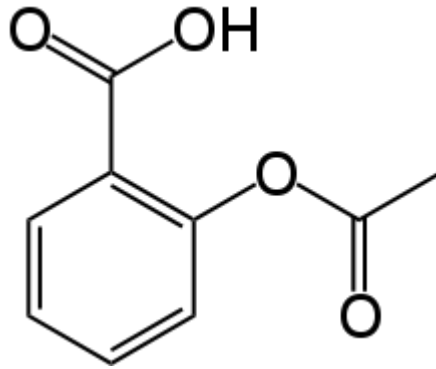


Figura 5. Estructura AAS

Los salicilatos, en forma de corteza de sauce, se utilizaron como analgésicos durante las épocas de Hipócrates y sus efectos antipiréticos han sido reconocidos desde hace más de 200 años ⁽¹⁴⁹⁾.

El AAS fue presentado a finales de 1890 ⁽¹⁵⁰⁾ y se ha utilizado para tratar una variedad de condiciones inflamatorias; sin embargo, la actividad antiplaquetaria de este agente no fue reconocido hasta casi 70 años después ⁽¹⁵¹⁾.

El AAS es el primero entre los fármacos antiinflamatorios no esteroideos que es aún el más ampliamente prescrito como agente analgésico, antipirético y antiinflamatorio ^(152,153).

El AAS ejerce su efecto principalmente al interferir con la biosíntesis de prostanoides cíclicos, es decir, tromboxano A₂, prostaciclina y otras prostaglandinas. Estos prostanoides son generados por la oxidación catalizada enzimáticamente del ácido araquidónico, que en sí, deriva de los fosfolípidos de membrana ⁽¹⁵⁴⁾. El ácido araquidónico es metabolizado por la enzima prostaglandina H-sintasa que a través de su ciclooxigenasa (COX) y las actividades de peroxidación por sintasas específicas, produce las PG D₂,

E2, F2A, I2 (prostaciclina) y tromboxano A2, todos los cuales median las funciones celulares específicas.

El AAS ejerce sus efectos antitrombóticos primarios a través de la inhibición de la PG H-sintasa/COX por la acetilación irreversible de un resto de serina específica y es unas 170 veces más potente en la inhibición de la COX-1 que COX-2 ⁽¹⁵⁵⁾.

Por otro lado, la acción antiinflamatoria del AAS se cree que es el resultado de su inhibición no específica de la ciclooxigenasa por acetilación del terminal amino de la serina en el sitio activo de la enzima reduciendo así el nivel de producción de prostaglandinas. Además, tiene la capacidad de eliminar radicales libres lo que incrementa más su eficacia antiinflamatoria ⁽¹⁵⁶⁾. También, el ácido salicílico el metabolito de la aspirina exhibe su acción antiinflamatoria por inhibir la migración de leucocitos además de la agregación de neutrófilos humanos que es inducido por algunos quimioatrayentes. También, por sus efectos antiinflamatorios, el AAS inhibe la interacción leucocito-endotelio, que a su vez, se encuentran entre los sucesos iniciadores de la aterogénesis, el crecimiento de vasos colaterales ⁽¹⁵⁷⁾.

Además de las propiedades antiinflamatorias y analgésicas del AAS, se han identificado nuevas acciones terapéuticas entre las que se incluyen la prevención de enfermedades cardiovasculares, disminuir la incidencia de cáncer de pulmón, colon y mama ⁽¹⁵⁸⁾.

Un efecto importante a destacar es el efecto trombótico paradójico del AAS. Hay evidencia epidemiológica de complicaciones trombo-embólicas después de la retirada o discontinuidad por incumplimiento o por realización de cirugía u otros procedimientos médicos ⁽¹⁵⁹⁾. La generación del trombo se aumentó al 8-10⁰ día después de una inyección de una dosis única de AAS en ratas ⁽¹⁶⁰⁾.

Un aspecto a tener en cuenta son las posibles causas de aparición del derrame isquémico recurrente en pacientes que toman AAS que incluyen una inadecuada inhibición de reactivación plaquetaria debido a inadecuada dosis o a una adherencia pobre al tratamiento o una resistencia relativa a la inhibición de la ciclooxigenasa plaquetaria por el AAS ⁽¹⁶¹⁾.

La resistencia del AAS ocurre en 5-45% de la población y es independientemente asociada con un riesgo incrementado de eventos cardiovasculares mayores. Los potenciales mecanismos de resistencia al AAS pueden ser clínicos, biológicos o genéticos. Las variables clínicas asociadas con resistencia a AAS incluyen el tabaco, la enfermedad coronaria isquémica y la concurrencia del uso de fármacos estatinas ⁽¹⁶²⁾.

Efectos del AAS en diferentes órganos:

- enfermedad arterial coronaria. En la prevención primaria, los ensayos demuestran que el tratamiento con AAS no disminuye la mortalidad cardiovascular pero disminuye significativamente el riesgo de infarto de miocardio no fatal ⁽¹⁶³⁾.

En un metaanálisis de ensayos controlados randomizados se demuestra que el uso de clopidogrel en combinación con AAS para pacientes con síndrome coronario agudo o pacientes que recibieron una intervención percutánea coronaria disminuye la probabilidad de eventos coronarios mayores y de infarto de miocardio fatal y no fatal, comparado con el AAS solo. El uso de doble terapia antiplaquetaria en pacientes con síndrome coronario agudo tiene una favorable tasa riesgo/beneficio a diferencia de pacientes con enfermedad cardiovascular estable, en los que se asocia con un incremento del riesgo de hemorragia ⁽¹⁶⁴⁾.

- enfermedad cerebrovascular. Regímenes de bajas dosis de AAS parecen apropiados para la prevención secundaria de enfermedad cerebrovascular ⁽¹⁶³⁾.

- trombosis de arteria carotídea: inhibe de forma significativa la formación de trombo oclusivo, cuando se administra AAS a bajas dosis (4-10 mg/Kg) junto con heparina, enoxaparina o clopidogrel. Hay que destacar que la combinación AAS con clopidogrel o enoxaparina no incrementa el tiempo de hemorragia a diferencia de la combinación AAS con heparina ⁽¹⁶⁵⁾.

- Retinopatía diabética: el AAS puede ser beneficioso en retinopatía diabética a través de su efecto antiplaquetario. Tal posibilidad podría ser consistente con el hecho que en diabetes humana los vasos retinianos demuestran microtrombos plaquetario-fibrina ⁽¹⁶⁶⁾. Como la dosis antiplaquetaria de AAS es bien tolerada en tratamientos de larga duración; está indicada en pacientes diabéticos para la prevención primaria de enfermedad cardiovascular. En un ensayo clínico ⁽¹⁶⁷⁾ se observó que el agente antiplaquetario ticlopidina reduce la progresión de microaneurismas; teniendo así un papel beneficioso en la retinopatía diabética. Sin embargo, las tienopiridinas –clopidogrel- tienen un pobre resultado en retinopatía diabética en ratas.

- Peter et al. ⁽¹⁶⁸⁾ encontraron que baja dosis de AAS administrado preoperatoriamente disminuye la trombosis de anastomosis venosa e incrementó la perfusión de la microcirculación distal.

Los hallazgos de un estudio ⁽¹⁶⁹⁾ demuestran que la combinación de terapia antiplaquetaria lleva un mayor riesgo de sangrado que la monoterapia, pero falla para estratificar la terapia de acuerdo a la enfermedad o el tipo de combinación de agentes. Entre los tres agentes actualmente aprobados para la prevención secundaria de ictus, el clopidogrel solo lleva el perfil más bajo hemorrágico y puede además ser más seguro que el AAS más dipiridamol de liberación prolongada.

1.4.1 Ficha Técnica ⁽¹⁷⁰⁾

Propiedades farmacológicas

- Propiedades farmacodinámicas

Grupo farmacoterapéutico: N02BA.

El ácido acetilsalicílico pertenece al grupo de fármacos analgésicos antipiréticos y antiinflamatorios no esteroideos (AINE).

El efecto analgésico del ácido acetilsalicílico se realiza periféricamente a causa de la inhibición de la síntesis de las prostaglandinas, lo que impide la estimulación de los receptores del dolor por la bradiquinina y otras sustancias. Asimismo, en el alivio del dolor son posibles efectos centrales sobre el hipotálamo.

El efecto antipirético parece ser debido a la inhibición de la síntesis de las prostaglandinas, aunque los núcleos del hipotálamo tienen un papel significativo en el control de estos mecanismos periféricos.

El ácido acetilsalicílico inhibe la formación del tromboxano A₂, por la acetilación de la ciclooxigenasa de las plaquetas. Este efecto antiagregante es irreversible durante la vida de las plaquetas.

- Propiedades farmacocinéticas

El acetilsalicilato de lisina se disocia en ácido acetilsalicílico y lisina en el plasma. El ácido acetilsalicílico se absorbe rápidamente y se hidroliza en ácido salicílico. Éste se une en gran parte a las proteínas plasmáticas. A los quince minutos tras la inyección de 1000 mg de ácido acetilsalicílico por vía intravenosa, se obtiene una salicilemia de 220 mg/l. Por vía intramuscular, a los quince minutos tras la inyección de 1g de ácido acetilsalicílico, se obtiene una salicilemia de 110 mg/l. La eliminación por la orina aumenta con el pH urinario. La vida media del ácido salicílico es de 3 a 9 horas con la dosis administrada.

1.5 Clopidogrel

El hidrogenosulfato de clopidogrel es un inhibidor de la agregación plaquetaria. Es un derivado de tienopiridina químicamente relacionado con ticlopidina, pero es seis veces más potente y tiene menos efectos adversos (171).

El nombre sistémico del clopidogrel es (+)-(S)-methyl 2-(2-chlorophenyl)-2-(6,7-dihydrothieno[3,2-c]pyridin-5(4H)-yl)acetate. Su fórmula química es C₁₆H₁₆NCIO₂S (Figura 6).

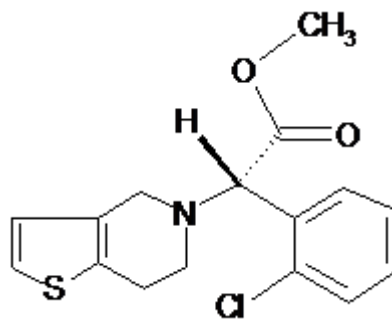


Figura 6. Estructura del clopidogrel

La patente de clopidogrel fue presentada por primera vez en 1987, y fue aprobado el clopidogrel en los países occidentales en 1997 para la prevención de accidente cerebrovascular isquémico, infarto de miocardio y muerte vascular en pacientes con síntomas de aterosclerosis (172). En 2002, después del histórico ensayo CURE (clopidogrel in unstable angina recurrent events), se aprobó el uso de clopidogrel, además de la terapia estándar (incluyendo AAS) para la reducción de eventos aterotrombóticos en pacientes con síndromes coronarios agudos.

El clopidogrel pertenece a la familia de las tienopiridinas. Su acción consiste en inhibir selectiva e irreversiblemente la unión inducida por ADP de fibrinógeno a las plaquetas causando una reducción importante en la

activación inducida por ADP de complejo de glicoproteínas de membrana IIb/IIIa ⁽¹⁷¹⁾.

El clopidogrel es un profármaco que es metabolizado en el hígado por el sistema del citocromo P-450, que lo transforma en un metabolito activo para el desarrollo de efectos antiplaquetarios. El metabolito activo de clopidogrel ha sido finalmente purificado y su estructura química ha sido determinada. Es un tiol reactivo de clopidogrel que se dirigen directamente al receptor ADP plaquetario P2Y₁₂ ⁽¹⁷³⁾. La vida media de este compuesto es de 8 horas; sin embargo, el efecto sobre las plaquetas dura unos 7 días.

El clopidogrel se absorbe rápidamente por vía oral; excediendo la absorción al 96% ⁽¹⁷¹⁾. El metabolismo es tan extenso que es difícil de detectar el clopidogrel en la circulación: el compuesto circulante es el inactivo SR 26334 derivado del ácido carboxílico -metabolito principal- que alcanza la concentración plasmática máxima a una hora de la ingestión ⁽¹⁷⁴⁾. La eliminación es un 50% renal y un 46% gastrointestinal. La absorción del clopidogrel no se ve afectada por los alimentos. A pesar del metabolismo hepático, se han visto pequeñas interacciones con otros fármacos ⁽¹⁷⁵⁾.

Los receptores de ADP también están presentes en la pared de los vasos. Las acciones inhibitorias directas observadas en la respuesta contráctil de la serotonina y de los productos de plaquetas activadas (tromboxano) pueden deberse a la modulación de receptores ADP en la pared del vaso. Este receptor puede ser diferente del encontrado en las plaquetas ⁽¹⁷⁶⁾.

Efectos del clopidogrel en diferentes órganos:

- A nivel cerebral: Umemura et al. ⁽¹⁷⁷⁾ demostraron que el pretratamiento con clopidogrel (a dosis oral de 3-10 mg/Kg en ratas) reduce significativamente el tamaño del daño isquémico inducido por oclusión trombótica de la arteria cerebral media.

- El clopidogrel inhibe la formación de trombo en la trombosis arterial carotídea en la rata cuando se administra solo; a diferencia del AAS ⁽¹⁶⁵⁾.
- Moore and Deschler ⁽¹⁷⁸⁾ encontraron un descenso en la trombosis venosa en ratas con la administración preoperatoria de clopidogrel de 5mg/kg.
- El clopidogrel, a diferencia del AAS, redujo considerablemente la frecuencia de oclusión de las arterias coronarias y prolongó el tiempo de reclusión. Una dosis de 10 mg/kg de clopidogrel, bien previene completamente o retrasa notablemente una nueva oclusión ⁽¹⁷⁹⁾.
- En el subgrupo de pacientes del estudio CAPRIE (clopidogrel versus AAS in patients at risk for ischemic events) con enfermedad arterial periférica, la tasa media de eventos anuales fue 3.71% en el grupo de clopidogrel comparado con 4.86% en el grupo AAS; con una reducción relativa del riesgo del 23.8%. El incremento de efectividad de clopidogrel comparado con AAS en este estudio podría ser atribuible a su efecto inhibitorio selectivo en la agregación plaquetaria inducida por ADP, una vía que no es afectada por la acción del AAS ⁽¹⁶²⁾.
- Incrementa la tasa de éxito en pacientes que recibieron transferencia de tejido libre microvascular, al prevenir la trombosis en la anastomosis arterial microvascular ⁽¹⁸⁰⁾.
- Otros efectos beneficiosos del clopidogrel: sobre la función endotelial y la hipertensión ⁽¹⁸¹⁾; aumenta la biodisponibilidad de NO endotelial ⁽¹⁸²⁾, disminuye los niveles séricos de ligando CD 40, proteína C reactiva, P-selectina, disminuye la formación de agregados de plaquetas-leucocitos y disminuye los eventos proinflamatorios y protrombóticos en seres humanos ⁽¹⁸¹⁾.

La ticlopidina y el clopidogrel parecen ser muy similares en términos de su eficacia y su seguridad, excepto que la ticlopidina se asocia con más erupciones cutáneas y diarrea y con un riesgo de púrpura trombótica

trombocitopénica y de aplasia de médula ósea lo cual hace del clopidogrel la tienopiridina de elección en términos de seguridad ⁽¹⁸³⁾.

Se ha demostrado que la terapia a largo plazo con clopidogrel es más efectiva que dosis media de AAS en reducir el infarto de miocardio, derrame cerebral o la muerte vascular, mientras que el perfil de seguridad es similar al del AAS ⁽¹⁷²⁾. Debido a su efecto antiagregante y anticoagulante, el clopidogrel puede ser un prometedor agente antitrombótico ⁽¹⁸⁴⁾.

Estudios clínicos dentro del espectro del síndrome coronario agudo:

- Estudio CURE (clopidogrel in unstable angina recurrent events). La variable combinada fue muerte cardiovascular, infarto de miocardio no fatal y derrame cerebral. Esta variable ocurrió en un 11.4% de los pacientes tratados con placebo y en un 9.3% de los pacientes tratados con clopidogrel, con una reducción del riesgo relativo del 20%. En los pacientes que recibieron cirugía de bypass arterial coronario, el sangrado fue significativamente mayor si el clopidogrel no se interrumpió cinco días o más antes de la cirugía. En el estudio CURE, solo el 4% de los centros participantes rutinariamente, incluía inhibidores de la glucoproteína IIb/IIIa y procedimientos de intervención temprana. Así este estudio pudo demostrar un claro papel para el clopidogrel en el grupo definido de alto riesgo ⁽¹⁸⁵⁾.

- Estudio CREDO (clopidogrel for the reduction of events during observation). Se realizó en pacientes con enfermedad coronaria programados para intervencionismo percutáneo. Dentro del estudio CREDO, analizando el subgrupo de pacientes con enfermedad vascular extracoronaria (enfermedad arterial oclusiva periférica o cerebrovascular), se observó una reducción en la incidencia de episodios cardiovasculares mayores del 19,6 hasta el 9,2% en los pacientes tratados con terapia antiagregante dual, respecto al uso sólo de aspirina ($p=0,02$, reducción absoluta de riesgo del 10,4%) ⁽¹⁸⁶⁾.

- PLUTO-CHF (the plavix use for treatment of congestive heart failure) trial: El tratamiento con clopidogrel y AAS durante un mes proporciona

significativamente mayor inhibición de la actividad plaquetaria que el AAS sólo en pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva (ICC). Los pacientes con ICC con la actividad de las plaquetas aumentada representan una población potencial diana en la cual la adición de clopidogrel puede disminuir índices de mortalidad al reducir la incidencia de acontecimientos trombóticos vasculares ⁽¹⁸⁷⁾.

Estudios clínicos con clopidogrel en enfermedad arterial oclusiva (EAO) ⁽¹⁸⁸⁾:

- Estudio CAPRIE (clopidogrel versus AAS in patients at risk for ischemic events). Demostró que el clopidogrel tenía un efecto más beneficioso en los 6.452 pacientes incluidos con EAO de miembros inferiores, con una disminución del riesgo relativo de estos episodios del 23,8% ($p=0,0028$) frente al AAS.

El clopidogrel proporciona una reducción relativa del riesgo adicional del 8,7% sobre la reducción del 25% aceptada para ser proporcionada por el AAS. La eficacia resultante del estudio CAPRIE es consistente con los hallazgos previos con ticlopidina e indican que las tienopiridinas tienen mayor beneficio que el ácido acetilsalicílico en pacientes con enfermedad aterotrombótica, confirmando la importancia de la vía ADP, comparada con la vía de tromboxano, en esta enfermedad ⁽¹⁷²⁾.

- Estudio CASPAR (clopidogrel and acetyl-salicylic acid in bypass surgery por peripheral arterial disease): el tratamiento con terapia dual resultó en más sangrados que la monoterapia ($p < 0,001$).

- Estudio CHARISMA (Clopidogrel for High Atherothrombotic Risk and Ischemic Stabilization, Management, and Avoidance): la aparición de episodios cardiovasculares en el seguimiento fue más frecuente entre los pacientes incluidos por EAO de miembros inferiores ($p= 0,002$) cuando se compararon frente a los incluidos por enfermedad coronaria, cerebrovascular o por múltiples factores de riesgo.

Se han propuesto muchos factores para explicar la variabilidad individual en la respuesta a los agentes antiplaquetarios; entre los que se incluyen: administración de dosis bajas del medicamentos, alteraciones en la absorción intestinal, incremento en la producción de plaquetas, los diferentes tests de evaluación de laboratorio, el abuso de tabaco, polimorfismos ligados a mutaciones genéticas ⁽¹⁸⁸⁾, aumento del índice de masa corporal, hemoglobina glicosilada, los valores del péptido C y el factor de von Willebrand ⁽¹⁸⁹⁾, pacientes tratados con altas dosis de bloqueadores de los canales de calcio e inhibidores de la enzima de conversión ⁽¹⁹⁰⁾. En el momento actual no hay un consenso aceptado acerca de cómo manejar esta situación de “resistencia” a clopidogrel. Una opción válida puede ser la de incrementar las dosis, tanto de carga como de mantenimiento.

1.5.1 Ficha Técnica ⁽¹⁹¹⁾

Propiedades farmacológicas

- Propiedades farmacodinámicas

Grupo farmacoterapéutico: inhibidores de la agregación plaquetaria, excluida la heparina, Código ATC: B01AC/04.

Clopidogrel es un profármaco, uno de cuyos metabolitos es un inhibidor de la agregación plaquetaria. Clopidogrel debe metabolizarse por las enzimas CYP450 para producir el metabolito activo que inhibe la agregación plaquetaria. El metabolito activo de clopidogrel inhibe selectivamente la unión del adenosin-difosfato (ADP) a su receptor plaquetario P2Y12 y la activación posterior del complejo GPIIb-IIIa mediada por ADP, inhibiendo de esta forma la agregación plaquetaria. Debido a la unión irreversible, las plaquetas expuestas se ven afectadas durante el resto de su vida (7-10 días aproximadamente) y la recuperación de la función plaquetaria normal se produce a una velocidad que depende del grado de renovación de las plaquetas. La agregación plaquetaria inducida por otros agonistas diferentes

del ADP también se ve inhibida por el bloqueo de la amplificación de la activación plaquetaria por el ADP liberado.

Debido a que el metabolito activo se forma por la acción de las enzimas del CYP450, algunas de las cuales son polimórficas o están sujetas a inhibición por otros fármacos, no todos los pacientes mostrarán una inhibición de plaquetas adecuada.

La administración de dosis repetidas de clopidogrel 75 mg/día produce, desde el primer día, una inhibición considerable de la agregación plaquetaria inducida por ADP; ésta aumenta progresivamente y alcanza el estado estacionario entre el día 3 y el día 7. En el estado estacionario, el nivel medio de inhibición observado con una dosis de 75 mg/día está entre el 40% y 60%. En general, la agregación plaquetaria y el tiempo de sangría vuelven gradualmente a los valores basales en los 5 días posteriores a la suspensión del tratamiento.

Se ha evaluado la seguridad y eficacia de clopidogrel en 4 ensayos clínicos doble ciego en los que se incluyeron más de 80.000 pacientes: en el ensayo CAPRIE se comparaba clopidogrel frente a AAS, y en los ensayos CURE, CLARITY y COMMIT, se comparaba clopidogrel frente a placebo. En todos ellos, ambos medicamentos se administraban en combinación con AAS y otros tratamientos estándar.

Infarto agudo de miocardio reciente (IAM), ictus reciente o enfermedad arterial periférica establecida.

El ensayo CAPRIE incluyó 19.185 pacientes con aterotrombosis, manifestada por IAM reciente (<35 días), ictus isquémico (entre 7 días y 6 meses) o enfermedad arterial periférica establecida (EAP). Los pacientes fueron distribuidos aleatoriamente a recibir clopidogrel 75 mg/día o AAS 325 mg/día, y el seguimiento fue de entre 1 y 3 años. En el subgrupo con IAM, la mayoría de pacientes recibieron AAS durante los primeros días post-infarto. Clopidogrel redujo significativamente la incidencia de nuevos eventos

isquémicos en comparación con AAS (variable principal combinada de IAM, ictus isquémico y muerte vascular). En el análisis por intención de tratar, se observaron 939 eventos con clopidogrel y 1.020 con AAS (reducción del riesgo relativo (RRR) 8.7% [IC 95%: 0,2 a 16,4]; $p=0.045$), que corresponde, por cada 1.000 pacientes tratados durante 2 años, a 10 [IC: 0 a 20] pacientes adicionales en los que se evita la aparición de un nuevo evento isquémico. El análisis de la mortalidad total como variable secundaria no mostró ninguna diferencia significativa entre clopidogrel (5,8%) y AAS (6,0%).

En un análisis de subgrupos en función de los criterios de inclusión (IAM, ictus isquémico y EAP) el beneficio parecía superior (alcanzando significación estadística con una $p=0,003$) en los pacientes incluidos en el ensayo que presentaban enfermedad arterial periférica (especialmente en aquellos que también tenían historia de IAM) (RRR=23,7%; IC: 8,9 a 36,2) y menor (sin diferencias significativas respecto a AAS) en los pacientes con infarto cerebral (RRR=7.3%; IC: -5,7 a 18,7 [$p=0,258$]). En los pacientes que fueron incluidos en el ensayo por haber sufrido únicamente un IAM reciente, clopidogrel fue numéricamente inferior pero no estadísticamente diferente a AAS (RRR= - 4,0%; IC: - 22,5 a 11,7 [$p=0,639$]). Además, un análisis de subgrupos por edad sugirió que el beneficio de clopidogrel en pacientes mayores de 75 años fue inferior al observado en pacientes < 75 años. Dado que el ensayo CAPRIE no fue diseñado para calcular la eficacia en subgrupos individuales, no está claro si las diferencias en términos de reducción del riesgo relativo entre los diferentes grupos son reales, o si son resultado del azar.

Síndrome coronario agudo.

El ensayo CURE incluyó 12.562 pacientes con síndrome coronario agudo sin elevación del segmento ST (angina inestable o infarto de miocardio sin onda-Q), y que presentaban dentro de las 24 horas siguientes al inicio del cuadro una angina de pecho o síntomas de isquémica. Era necesario que los

pacientes presentaran cambios en el ECG compatibles con nuevos cuadros de isquemia o enzimas cardíacos elevados o niveles de troponina I ó T de al menos dos veces el límite superior normal. Los pacientes fueron aleatorizados a tratamiento con clopidogrel (dosis de carga de 300 mg seguida de 75 mg/día N= 6.259) o placebo (N= 6.303), ambos administrados en combinación con AAS (75-325 mg una vez al día) y otros tratamientos estándar. Los pacientes fueron tratados durante un período de hasta un año. En el ensayo CURE, 823 pacientes (6,6%) recibieron tratamiento concomitante con antagonistas del receptor de la GPIIb/IIIa. Se administraron heparinas a más del 90% de los pacientes y la incidencia relativa de hemorragia entre clopidogrel y placebo no se vio afectada significativamente por el tratamiento concomitante con heparinas.

El número de pacientes que cumplió la variable principal [muerte de origen cardiovascular (CV), IAM o ictus] fue de 582 (9,3%) en el grupo tratado con clopidogrel y de 719 (11,4%) en el grupo tratado con placebo, con una RRR del 20% (IC 95% de 10-28%; $p= 0,00009$) para el grupo tratado con clopidogrel (RRR del 17% cuando los pacientes fueron tratados de forma conservadora, del 29% cuando estos fueron sometidos a angioplastia coronaria transluminal percutánea (ACTP) con o sin stent y de un 10% cuando fueron sometidos a cirugía de by-pass coronario (CABG). Se previnieron nuevos eventos cardiovasculares (variable principal), con reducciones del riesgo relativo del 22% (IC: 8,6; 33,4); 32% (IC: 12,8; 46,4); 4% (IC: -26,9; 26,7); 6% (IC: -33,5; 34,3) y 14% (IC: -31,6; 44,2) durante los intervalos del ensayo 0-1, 1-3, 3-6, 6-9, 9-12 meses, respectivamente. Por tanto, después de 3 meses de tratamiento, el beneficio observado en el grupo clopidogrel + AAS no se aumentó mucho más, mientras que persistió el riesgo de hemorragia.

La utilización del clopidogrel en el ensayo CURE se asoció a una disminución de la necesidad de tratamiento trombolítico (RRR= 43,3%; IC: 24,3%; 57,5%) y de inhibidores de la GPIIb/IIIa (RRR= 18,2%; IC: 6,5%;

28,3%). El número de pacientes que experimentó la covariable principal (muerte CV, IAM, ictus o isquemia refractaria) fue de 1.035 (16,5%) en el grupo tratado con clopidogrel y de 1.187 (18,8%) en el grupo tratado con placebo, con una RRR del 14% (IC 95% de 6-21%, $p= 0,0005$) para el grupo tratado con clopidogrel. Este beneficio fue debido principalmente a la reducción estadísticamente significativa de la incidencia de IAM [287 (4,6% en el grupo tratado con clopidogrel y 363 (5,8%) en el grupo tratado con placebo]. No se observó ningún efecto sobre la tasa de rehospitalización por angina inestable.

Los resultados obtenidos en poblaciones con distintas características (ej.: angina inestable o infarto de miocardio sin onda-Q, niveles de riesgo bajos y altos, diabetes, necesidad de revascularización, edad, sexo, etc.) fueron consistentes con los resultados del análisis principal. En particular, en un análisis posthoc realizado en 2.172 pacientes (17% del total de la población del CURE) sometidos a la colocación de un stent (Stent-CURE), los datos demostraron que clopidogrel comparado con placebo, conseguía una RRR significativa de 26,2% a favor de clopidogrel para la covariable principal (muerte CV, IAM, ictus) y también una RRR significativa de 23,9% para la segunda covariable principal (muerte CV, IAM, ictus o isquemia refractaria). Además, el perfil de seguridad de clopidogrel en este subgrupo de pacientes se mantuvo. Asimismo, los resultados de este subgrupo se encuentran en línea con los resultados generales de los ensayos.

Los beneficios observados con clopidogrel fueron independientes de otros tratamientos cardiovasculares tanto a nivel agudo como a largo plazo (heparina/HBPM, inhibidores GPIIb/IIIa, fármacos hipolipemiantes, betabloqueantes e IECAs). La eficacia de clopidogrel se observó independientemente de la dosis de AAS utilizada (75-325 mg una vez al día).

Se ha evaluado la eficacia y seguridad de clopidogrel, en pacientes con IAM con elevación del segmento ST en 2 ensayos doble ciego, controlados con placebo y aleatorizados: CLARITY y COMMIT.

El ensayo CLARITY incluyó 3.491 pacientes que presentaron un IAM con elevación del segmento ST de menos de 12 horas de evolución que recibieron terapia trombolítica. Los pacientes recibieron clopidogrel (dosis de carga de 300 mg, seguida de 75mg/día, n=1.752) o placebo (n=1.739), ambos en combinación con AAS (150 a 325 mg como dosis de carga, seguida de 75 a 162 mg/día), un agente fibrinolítico y cuando fue preciso, heparina. Se realizó un seguimiento de los pacientes durante 30 días. La variable principal de eficacia fue la compuesta por la oclusión de la arteria relacionada con el infarto en el angiograma realizado antes del alta hospitalaria, o muerte o IAM recurrente antes de la angiografía coronaria. Para los pacientes que no se sometieron a angiografía, la variable principal fue la compuesta por muerte o IAM recurrente, en el Día 8 o al alta hospitalaria. La población incluyó un 19,7% de mujeres y un 29,2% de pacientes \geq 65 años. Un total de 99,7% de los pacientes recibieron fibrinolíticos (fibrino específicos: 68,7%, no fibrino específicos: 31,1%), un 89,5% heparina, un 78,7% betabloqueantes, un 54,7% inhibidores de la ECA y un 63% estatinas. El 15,0% de los pacientes en el grupo de clopidogrel y el 21,7% en el grupo placebo alcanzaron la variable principal lo que representa una reducción absoluta del 6,7% y una reducción de la probabilidad del 36% a favor de clopidogrel (95% CI: 24,47%; $p < 0,001$), relacionado principalmente con una reducción de la oclusión de la arteria relacionada con el infarto. Este beneficio fue consistente entre todos los subgrupos preespecificados incluyendo los de edad y raza, localización del infarto y tipo de fibrinolítico o heparina utilizados.

El ensayo COMMIT de diseño factorial 2x2 incluyó 45.852 pacientes que presentaron en el plazo de 24 horas el comienzo de los síntomas, un posible IAM confirmado por alteraciones del ECG (elevación ST, depresión ST o bloqueo de la rama izquierda). Los pacientes recibieron clopidogrel (75 mg/día, n=22.961) o placebo (n=22.891), en combinación con AAS (162 mg/día), durante 28 días o hasta el alta hospitalaria.

Las covariables principales de eficacia fueron muerte por cualquier causa y la primera aparición de reinfarto, ictus o muerte. La población incluyó un 27,8% de mujeres, un 58,4% pacientes ≥ 60 años (26% ≥ 70 años) y un 54,5% de pacientes que recibieron fibrinolíticos.

Clopidogrel redujo significativamente el riesgo relativo de muerte por cualquier causa en un 7% ($p=0,029$), y el riesgo relativo de la combinación de re-infarto, ictus o muerte en un 9% ($p=0,002$) que representa una reducción absoluta del 0,5% y 0,9%, respectivamente. Este beneficio fue consistente con la edad, raza, con y sin fibrinolítico, y se observó antes de 24 horas.

- Propiedades farmacocinéticas

Absorción

Clopidogrel se absorbe rápidamente tras la administración de dosis orales repetidas de 75 mg/día. Las concentraciones plasmáticas medias del clopidogrel inalterado (aproximadamente 2,2-2,5 ng/ml después de una dosis oral única de 75 mg) se producen transcurridos unos 45 minutos después de su administración. La absorción es al menos del 50% calculada en función de la excreción urinaria de los metabolitos de clopidogrel.

Distribución

In vitro Clopidogrel y su principal metabolito (inactivo) circulante, se unen de forma reversible a proteínas plasmáticas humanas (98 y 94%, respectivamente). *In vitro*, la unión es no saturable para un amplio rango de concentraciones.

Metabolismo

Clopidogrel es ampliamente metabolizado en el hígado. *In vitro* e *in vivo*, clopidogrel se metaboliza mediante dos principales rutas: una mediada por esterasas y produciendo la hidrólisis a su derivado inactivo carboxílico (que

representa el 85% de los metabolitos circulantes), y una mediada por múltiples citocromos P450. Clopidogrel se metaboliza primero al metabolito intermedio 2-oxoclopidogrel. La posterior transformación del metabolito intermedio 2-oxo-clopidogrel produce la formación del metabolito activo, un derivado tiol del clopidogrel. *In vitro*, esta ruta metabólica está mediada por CYP3A4, CYP2C19, CYP1A2 y CYP2B6. El metabolito tiol activo, que ha sido aislado *in vitro*, se une rápidamente y de forma irreversible a los receptores plaquetarios, inhibiendo entonces la agregación plaquetaria.

Eliminación

Tras una dosis oral de clopidogrel marcado con ¹⁴C en humanos, aproximadamente el 50% se excreta por orina y aproximadamente el 46% por vía fecal en las 120 horas siguientes a la administración. Después de una dosis oral única de 75 mg, clopidogrel presenta una semivida de aproximadamente 6 horas. La semivida de eliminación del metabolito circulante principal (inactivo) es 8 horas tras administración de dosis únicas y repetidas.

Farmacogenética

Diversas enzimas polimórficas CYP450 activan al clopidogrel. CYP2C19 está involucrada en la formación de ambos metabolitos y del metabolito intermedio 2-oxo-clopidogrel. La farmacocinética y los efectos antiagregantes del metabolito activo de clopidogrel, medidos mediante ensayos de agregación plaquetaria, difieren conforme al genotipo CYP2C19. El alelo CYP2C19*1 corresponde al metabolismo funcional completo mientras que los alelos CYP2C19*2 y CYP2C19*3 corresponden al metabolismo reducido. Los alelos CYP2C19*2 y CYP2C19*3 explican el 85% de la función alélica reducida en blancos y el 99% en asiáticos. Otros alelos asociados con metabolismo reducido incluyen CYP2C19*4, *5, *6, *7 y *8, pero estos son menos frecuentes en la población general. Las frecuencias

publicadas para los fenotipos y genotipos CYP2C19 más comunes se incluyen en la siguiente tabla (tabla 3).

Tabla 3. Frecuencia del genotipo y fenotipo CYP2C19

	Blancos (n=1356)	Negros (n=966)	Chinos (n=573)
Metabolismo extensivo CYP2C19*1/*1	74	66	38
Metabolismo intermedio CYP2C19*1/*2 ó *1/*3	26	29	50
Metabolismo pobre CYP2C19*2/*2,*2/*3 ó *3/*3	2	4	14

Hasta la fecha el impacto del genotipo CYP2C19 sobre la farmacocinética del metabolito activo de clopidogrel ha sido evaluado en 227 sujetos de 7 estudios notificados. El metabolismo reducido del CYP2C19 en metabolizadores pobres e intermedios disminuye C_{max} y AUC del metabolito activo en un 30-50% después de una dosis de carga de 300 o 600 mg y de una dosis de mantenimiento de 75 mg. La menor exposición al metabolito activo da lugar a una menor inhibición plaquetaria o a una mayor reactividad plaquetaria residual. Hasta la fecha las respuestas antiagregantes disminuidas a clopidogrel han sido descritas para metabolizadores intermedios y pobres en 21 estudios realizados en 4.520 sujetos. La diferencia relativa en la respuesta antiagregante entre los grupos de genotipos varía en los estudios dependiendo del método utilizado para evaluar la respuesta pero normalmente es mayor del 30%. La asociación del genotipo CYP2C19 y los resultados del tratamiento con clopidogrel se evaluaron en 2 análisis de ensayos clínicos post hoc (subestudios del CLARITY [n=465] y del TRITON-TIMI 38 [n=1.477]) y 5 estudios de cohorte (n total=6.489). En el CLARITY y uno de los estudios de cohorte (n=765; Trenk), la tasa de eventos cardiovasculares no difiere significativamente en función del genotipo. En el TRITON-TIMI 38 y 3 de los estudios de cohorte

(n=3.516; Collet, Sibbing, Giusti), los pacientes con estatus de metabolizador disminuido (intermedio y pobre combinados) tuvo una tasa mayor de eventos cardiovasculares (muerte, infarto de miocardio e ictus) o trombosis del stent que los metabolizadores extensivos. En el quinto estudio de cohorte (n=2.200; Simon), la tasa de incremento de eventos se observó sólo en los metabolizadores pobres. Los análisis farmacogenéticos pueden identificar genotipos asociados con la variabilidad de la actividad del CYP2C19. Puede haber variables genéticas de otras enzimas CYP450 con efectos sobre la capacidad de formar el metabolito de clopidogrel.

HIPÓTESIS DE TRABAJO

2. Hipótesis de trabajo

En el apartado anterior se ha expuesto que la isquemia-reperfusión intestinal produce lesiones tanto a nivel intestinal como en órganos a distancia y tanto durante la fase de isquemia como durante la fase de reperfusión; siendo más graves las lesiones producidas en el periodo de reperfusión, puesto que las alteraciones que aparecen tras la isquemia se acentúan cuando se introduce oxígeno a los tejidos.

Se han utilizado una gran variedad de sustancias para paliar o aminorar las lesiones producidas por la isquemia-reperfusión intestinal. En la bibliografía consultada dichos estudios se basan en la profilaxis y no el tratamiento ^(102, 105,106,112).

Nuestra hipótesis de trabajo plantea un estudio experimental de tratamiento de la isquemia mesentérica aguda. Para ellos hemos utilizado dos fármacos (AAS y clopidogrel), que en función de sus propiedades farmacocinéticas sería factible esperar que disminuyeran las lesiones de la mucosa intestinal tanto en fase de isquemia como en fase de reperfusión.

OBJETIVOS

3. Objetivos

3.1 Objetivo principal

El objetivo principal consistirá en la valoración del teórico efecto protector del ácido acetilsalicílico y del clopidogrel sobre el intestino delgado, en un modelo experimental de isquemia-reperfusión intestinal.

3.2 Objetivos específicos

1. Estudiar las alteraciones histológicas morfométricas (altura y anchura de la vellosidad, grosor total de la pared intestinal, profundidad de las criptas, daño histológico de la mucosa) de la pared intestinal tras el desarrollo de un modelo de isquemia-reperfusión intestinal.
2. Valorar las alteraciones histológicas morfométricas de la pared intestinal (altura y anchura de la vellosidad, grosor total de la pared, profundidad de las criptas, daño histológico de la mucosa) tras el desarrollo de un modelo de isquemia-reperfusión intestinal en sujetos tratados con ácido acetilsalicílico (Inyesprin®) por vía intragástrica, para diferentes tiempos de perfusión.
3. Valorar las alteraciones histológicas morfométricas de la pared intestinal (altura y anchura de la vellosidad, grosor total de la pared, profundidad de las criptas, daño histológico de la mucosa) tras el desarrollo de un modelo de isquemia-reperfusión en sujetos tratados con clopidogrel por vía oral, para diferentes tiempos de perfusión.

MATERIAL Y MÉTODOS

4. Material y métodos

4.1 Animales

Cuarenta y una ratas de la raza Wistar (clase *Mammalia*, subclase *Theria*, infraclase *Eutheria*, orden *Rodentia*, suborden *Myomorpha*, superfamilia *Muroidea*, familia *Muridae*, subfamilia *Murinae*, género *Rattus*, especie *Noveboracensis*) adultas machos, con peso entre 179.1 y 293 gramos han sido utilizados para este estudio. Las ratas fueron estabuladas en grupos de cinco o seis, sometidas a ciclos circadianos de luz-oscuridad (12h:12h), temperatura 22°C, humedad 65%, con alimento y agua ad libitum. En todo momento se ha respetado la normativa vigente respecto a la experimentación animal.

Las ratas han sido distribuidas de forma aleatoria en cuatro grandes grupos. Un grupo denominado A, al que se le practicaba isquemia intestinal sin aplicar fármaco alguno. Un grupo denominado B, tratado con el fármaco Inyesprin®. Un grupo denominado C, tratado con clopidogrel y un grupo control denominado D, al que se le realiza laparotomía media y movilización de la arteria mesentérica superior y vena porta sin clampaje. Los tres primeros grupos se subdividen en dos grupos, de seis animales cada uno, en función del tiempo de reperfusión:

Grupo A1: No aplicación de fármaco, isquemia de 60 minutos, y sin reperfusión tras el tiempo de isquemia.

Grupo A2: No aplicación de fármaco, isquemia de 60 minutos, y reperfusión de 24 horas.

Grupo B1: Tratamiento con Inyesprin®, isquemia de 60 minutos, y sin reperfusión.

Grupo B2: Tratamiento con Inyesprin®, isquemia de 60 minutos, y reperfusión de 24 horas.

Grupo C1: Tratamiento con clopidogrel, isquemia de 60 minutos, y sin reperfusión.

Grupo C2: Tratamiento con clopidogrel, isquemia de 60 minutos, y reperfusión de 24 horas.

Grupo D: Grupo control (laparotomía sin crear la lesión intestinal por isquemia-reperfusión), cierre y reperfusión de 24 horas.

Tras los 60 minutos de isquemia a todos aquellos grupos a los que no se les practica reperfusión se les sacrifica (grupos A1, B1, C1). A los grupos a los que se les realiza reperfusión de 24 horas; se les sacrifico tras este periodo de reperfusión y una vez obtenidas las muestras para el posterior estudio (grupos A2, B2, C2,D).

Tabla 4. *Clasificación de los grupos de animales*

Grupo	Fármaco	Isquemia	Reperfusión
A1	Ninguno	60 minutos	No
A2	Ninguno	60 minutos	24 horas
B1	Inyesprin [®]	60 minutos	No
B2	Inyesprin [®]	60 minutos	24 horas
C1	Clopidogrel	60 minutos	No
C2	Clopidogrel	60 minutos	24 horas
D	Grupo control		24 horas

4.2 Protocolo experimental

4.2.1 Técnica anestésica

Los animales fueron anestesiados con clorhidrato de ketamina (Ketolar[®]). La dosis inicial, administrada por vía intraperitoneal, fue de 60 mg/Kg. Esta dosis se repetía de forma periódica, aplicada por la misma vía para mantener al animal anestesiado en todo momento. La ketamina a estas dosis no inhibe el reflejo cardio-respiratorio, por lo que todos los animales mantuvieron la respiración espontánea durante la intervención.

4.2.2 Técnica quirúrgica

A. Preparación y colocación del animal

Una vez que los animales están anestesiados, se procede a rasurar la piel de la zona abdominal y a prepara dicha zona con solución iodada. Se inmoviliza a los animales en posición de decúbito supino mediante la sujeción de las cuatro extremidades.

B. Practica de isquemia intestinal

Se realiza una laparotomía media y se accede de esta forma a la cavidad abdominal. Se retrae el intestino delgado hacia la derecha para posteriormente acceder a la disección de la arteria mesentérica superior. El intestino delgado se cubre con gasas húmedas. Una vez que se ha disecado la arteria mesentérica superior, se coloca en la raíz de dicha arteria un clamp atraumático para provocar la isquemia intestinal. El tiempo de isquemia para los grupos A, B y C fue de 60 minutos.

C. Aplicación de fármacos

Tras realizar la isquemia intestinal, se administra la sustancia correspondiente a cada grupo. Al grupo B se le administra Inyesprin[®], 20 mg/Kg. Al grupo C se le administra Clopidogrel 0.77mg/Kg.

La presentación farmacológica del Inyesprin[®] es solución que se disuelve con suero fisiológico y se administra vía intragástrica. El Clopidogrel se presenta en comprimidos, por lo que se machaca y posteriormente se disuelve en suero fisiológico y se administra vía oral con la ayuda de una sonda.

Tabla 5. Dosis de los fármacos utilizados

Fármaco	Dosis	Disolución
Inyesprin [®]	20 mg/Kg	50 ml suero fisiológico
Clopidogrel	0.77 mg/Kg	10 ml suero fisiológico

D. Reperusión

Una vez transcurridos los 60 minutos de isquemia se retira el clamp atraumático observándose el perfecto restablecimiento del flujo arterial.

Se cierra la laparotomía media en dos planos con poliglactina 3/00 (Vicryl[®]) y sutura intradérmica reabsorbible en la piel con el mismo material.

E. Extracción de muestras

Dependiendo de los diferentes grupos, se procede de la siguiente manera:

A los grupos A1, B1 y C1, tras los 60 minutos de isquemia, se toman las muestras de intestino delgado a nivel de yeyuno y de íleon. Posteriormente se cierra la laparotomía y se sacrifica a los animales mediante dislocación cervical.

A los grupos A2, B2 y C2 se les introduce en su jaula inicial provista de alimento y agua. A las 24 horas, se realiza nueva laparotomía siguiendo la misma técnica anestésica descrita anteriormente y se procede a la toma de muestras de intestino delgado. A continuación se cierra la laparotomía y se sacrifica a los animales mediante dislocación cervical.

El segmento de yeyuno se obtiene de la zona correspondiente a unos 10 cm del ángulo de Treitz. El segmento de íleon se coge a unos 10 cm de la válvula ileocecal. De ambos segmentos intestinales se reseca un centímetro.

En el grupo D se procedió a la extracción de las muestras tras 24 horas de reperusión de la forma previamente explicada.

Todas las muestras se introducen en formol para su posterior procesamiento.

4.3 Estudio histopatológico

4.3.1 Preparación de muestras histológicas

Las muestras de yeyuno e íleon extraídas se limpian de restos de mesenterio y se lavó la luz intestinal con suero fisiológico sin presión. A continuación, se introducen los segmentos intestinales en formol para su posterior procesamiento.

4.3.2 Fijación

Se procede a la inmersión inmediata en una solución fijadora de formol al 10%, sobre un recipiente de cristal oscuro. La relación de volumen entre el líquido fijador y la pieza es de 20:1, relación mínima para combatir la pérdida de solución fijadora.

4.3.3 Lavado

Transcurrido el tiempo de fijación de las piezas, que es de 24 horas, se lava con agua destilada durante dos horas para eliminar el exceso de fijador.

4.3.4 Deshidratación

Se sumergen las piezas en alcohol etílico a concentraciones crecientes, sustituyendo toda el agua del tejido por alcohol.

El proceso fue el siguiente (Tabla 6).

Tabla 6. *Deshidratación de las muestras*

Alcohol	Tiempo
Alcohol al 70% I	2 horas
Alcohol al 70% II	2 horas
Alcohol al 96% I	1 hora
Alcohol al 96% II	1 hora
Alcohol al 100% I	1 hora
Alcohol al 100% II	1 hora
Benzoato de metilo I	2 horas
Benzoato de metilo II	2 horas
Benzoato de metilo III	3 horas
Benzol I	15 minutos
Benzol II	15 minutos

4.3.5 Inclusión en parafina

Una vez extraídas las piezas del benzol, se sumergieron durante 30 minutos en una mezcla a partes iguales de benzol y parafina blanda.

Posteriormente se pasaron por diferentes tipos de parafinas blandas y duras, hasta que es sustituido totalmente el benzol y la parafina penetra en los tejidos e impregna todas las estructuras.

Los pasos por los diferentes tipos de parafina se realizan en estufa de temperatura diferente dependiendo de si se trata de parafina blanda (51-53°C), o de parafina dura (57-60°C). El proceso dura 24 horas.

4.3.6 Formación de bloques y montaje en portaobjetos

Para obtener una parafina adecuada para ser seccionada es preciso efectuar el quemado de la misma, hasta que adquiere un color pardo-amarillento, con lo cual está dispuesta para ser utilizada en la formación de bloques.

La parafina se deposita en unos moldes metálicos especiales donde posteriormente son depositados los fragmentos intestinales objeto de estudio.

Una vez enfriada la parafina, los bloques están preparados para el corte al micrótopo. Se obtuvieron cortes seriados de un espesor de 6 micras que han sido adheridos al portaobjetos, adecuadamente preparado con albúmina, con el fin de facilitar la adherencia a las muestras. Los portaobjetos fueron desengrasados mediante inmersión alcohol-éter. Por último, se introducen en una estufa a 37°C durante 24 horas con el objeto que la albúmina se coagulara y se produzca una buena adherencia de los cortes al portaobjetos.

4.3.7 Desparafinación de los cortes

Los portaobjetos son sometidos a inmersión en xilol y luego en alcoholes de concentración creciente. La secuencia que se empleó fue la siguiente (tabla 7):

Tabla 7. *Desparafinación de los cortes*

Alcohol	Tiempo
Xilol I	10 minutos
Xilol II	10 minutos
Etílico al 100% I	2 minutos
Etílico al 100% II	2 minutos
Etílico al 96%	2 minutos
Etílico al 80%	2 minutos

4.3.8 Tinción con hematoxilina eosina

Los colorantes utilizados fueron hematoxilina de Harris y eosina amarillenta.

La pauta utilizada es la siguiente:

Se sumergieron las preparaciones, previamente desparafinadas, en hematoxilina durante 7 minutos.

A continuación se lavaron los cortes en agua destilada (pH neutro).

Diferenciación en alcohol clorhídrico durante 10 segundos, al objeto de eliminar el exceso de colorante.

Se sumergieron los portaobjetos en agua corriente (pH alcalino) durante 24 horas.

Se depositaron durante 10 minutos en agua oxigenada para eliminar el agua corriente.

Se sumergieron en eosina durante 1 minuto.

Por último, se depositaron los portaobjetos en agua destilada durante 10 minutos.

4.3.9 Aclaramiento y montaje

Terminado el proceso de coloración, los cortes pasan por baños sucesivos de alcohol de concentraciones crecientes, terminando en alcohol absoluto.

A continuación, los portaobjetos se pasaron por baños de xilol para eliminar el alcohol y lograr la máxima transparencia de los cortes. La pauta que se siguió fue la siguiente (tabla 8):

Tabla 8. *Aclaramiento de las muestras*

Alcohol	Tiempo
Etílico al 80%	5 minutos
Etílico al 96%	5 minutos
Etílico al 100% I	5 minutos
Etílico al 100% II	5 minutos
Xilol I	5 minutos
Xilol II	5 minutos

Una vez aclaradas las preparaciones, se depositó sobre los cortes pegamento Eukitt® colocando encima el cubreobjetos.

La valoración histológica se realizó en un microscopio óptico.

4.3.10 Morfometría

Las preparaciones histológicas fueron analizadas mediante un sistema informático morfométrico (Nikon DS Camera Control Unit DS-L2), que consta de un microscopio óptico convencional al que va acoplado un sistema óptico e informático que permite la proyección de la imagen del microscopio (Nikon Alphaphot-2 YS2) sobre una pantalla de ordenador de alta resolución. Asimismo, tiene un lápiz óptico que permite la medición de los distintos parámetros de la imagen de la pantalla.

Las preparaciones fueron examinadas a 10 aumentos. De cada una de ellas se eligió el corte que estuviese más libre de artefactos, realizándose todas las mediciones sobre el campo elegido. Para cada uno de los parámetros se realizaron tres mediciones por preparación.

Los parámetros que se midieron fueron los siguientes (figura 7):

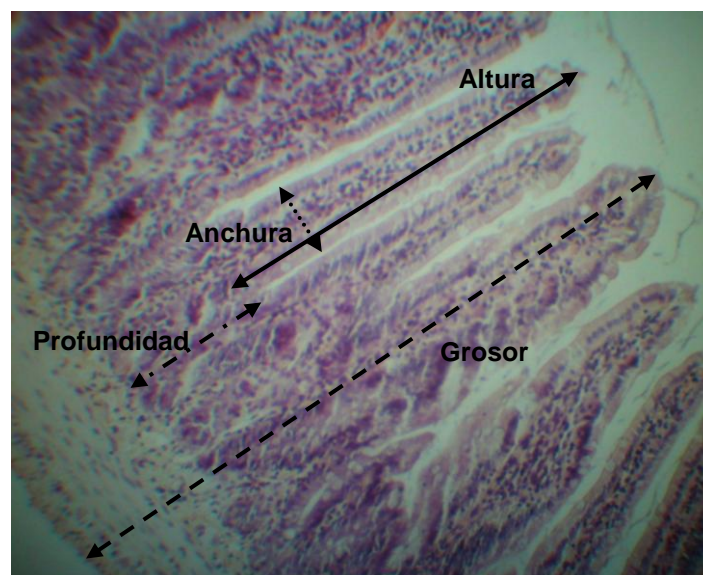


Figura 7. *Parámetros morfométricos medidos en cada preparación*

1. Altura de la vellosidad.

Se midió desde la punta de la misma hasta su base, considerando como tal, la zona donde se inician las criptas.

2. Anchura de la vellosidad.

A nivel de la zona media de la vellosidad.

3. Grosor total de la pared.

Incluyendo todas las capas de la pared intestinal, desde la serosa hasta la punta de las vellosidades.

4. Profundidad de las criptas.

Desde el fondo de éstas hasta el plano donde se inician las vellosidades.

5. Daño histológico de la mucosa y clasificación de acuerdo con los criterios microscópicos de Chiu et al. ⁽¹⁸⁾ como sigue:

Grado 0: mucosa normal (Figura 8).

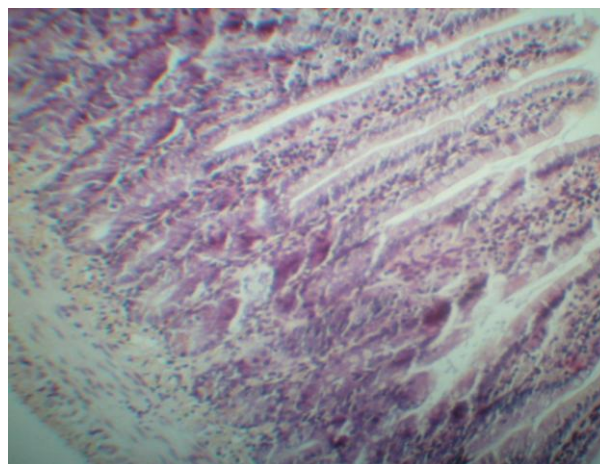


Figura 8. *Grado 0*

Grado 1: desarrollo de espacios subepiteliales cerca del extremo de los villi con congestión capilar (Figura 9).

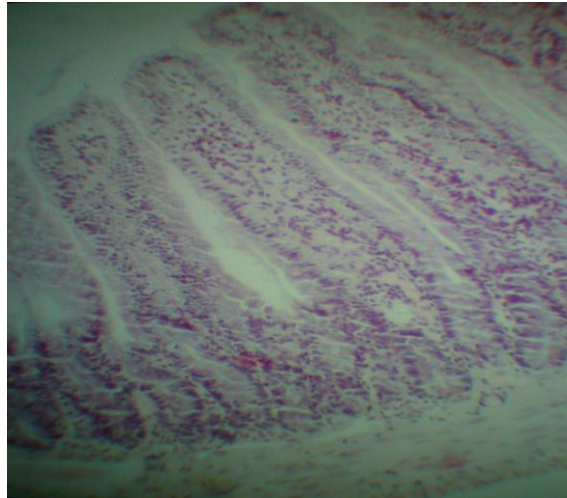


Figura 9. Grado 1

Grado 2: extensión del espacio subepitelial con despegamiento del epitelio de la lámina propia (Figura 10).

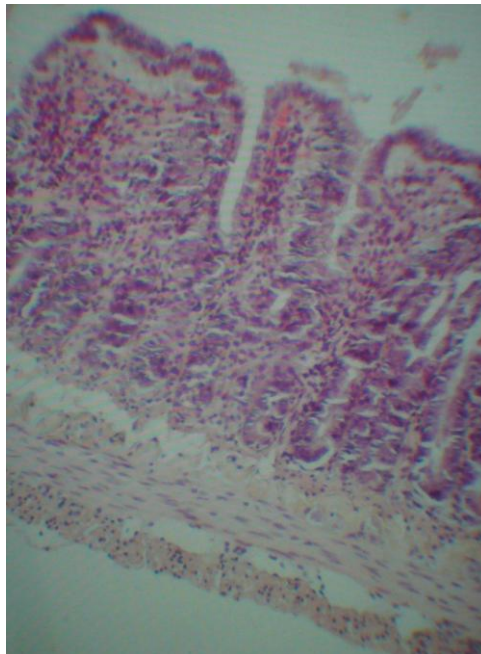


Figura 10. Grado 2

Grado 3: despegamiento epitelial masivo de los lados de los villi con desepitelización de pocos extremos de los mismos (Figura 11).

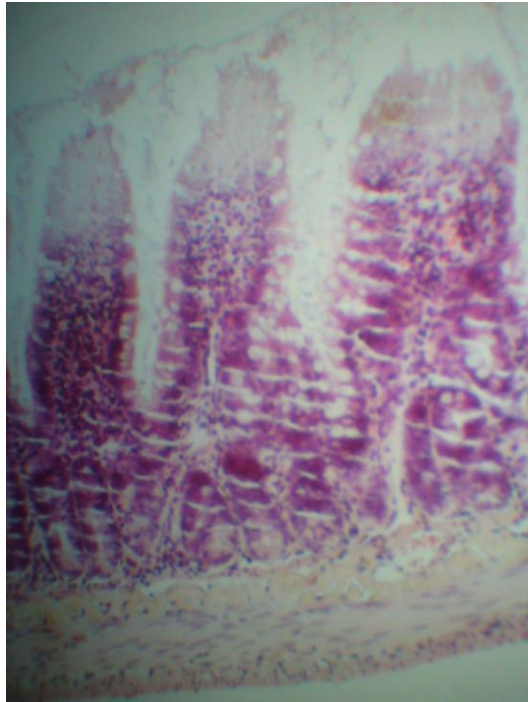


Figura 11. Grado 3

Grado 4: desepitelización de los villi con exposición de la lámina propia y capilares dilatados (Figura 12).

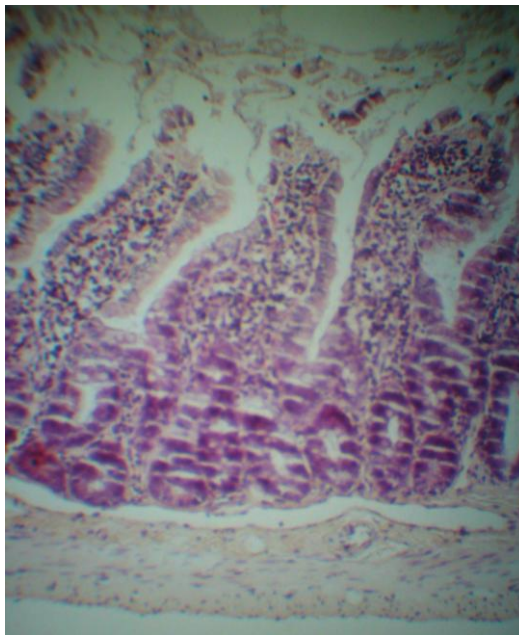


Figura 12. Grado 4

Grado 5: digestión y desintegración de la lámina propia, hemorragia y ulceración (Figura 13).

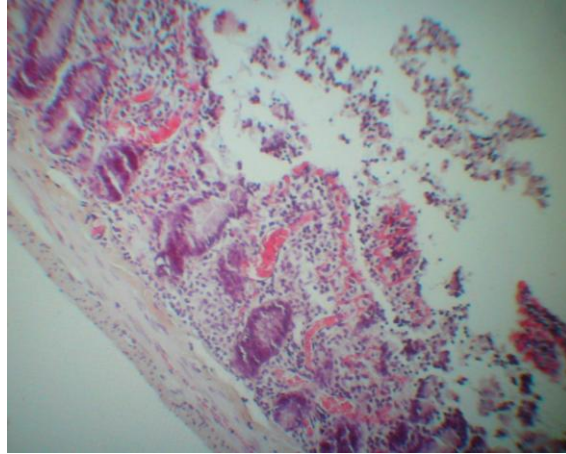


Figura 13. *Grado 5*

4.4 Análisis estadístico

Se analizaron por separado, cada uno de los parámetros estudiados, altura y anchura de la vellosidad, grosor total de la pared intestinal, profundidad de las criptas y daño histológico de la mucosa tanto para yeyuno como para íleon.

Las variables se presentan con la media y la desviación típica (DE) en el caso de seguir una distribución normal y con la mediana y la amplitud intercuartil en aquellos casos en los que no sigan una distribución normal.

La comparación de los tres grupos de tratamiento a tiempo 0 y a tiempo 1 se ha realizado mediante el test ANOVA. Sin embargo en los grupos cuyo resultado en el test de Levene ha obtenido significación estadística, se ha utilizado el test de Welch. Los contrastes a posteriori han sido DMS y Tamhane según si presentaban igual dispersión o no.

En aquellos casos que alguno de los grupos a comparar no siguiese una distribución normal, la comparación se ha realizado mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

La comparación con el grupo control se ha realizado mediante la prueba T de Student para muestras independiente o la prueba no paramétrica U de Mann Whitney según el caso.

Los datos han sido analizados con el programa estadístico SPSS versión 20.0 para Windows.

Aquellos valores de $p < 0.05$ han sido considerados estadísticamente significativos.

4.5 Principios y normas de experimentación animal

Todos los experimentos se realizaron siguiendo las normas de la legislación vigente sobre experimentación animal, como es:

- Orden ECC/566/2015, de 20 de marzo, por la que se establecen los requisitos de capacitación que debe cumplir el personal que maneje animales utilizados, criados o suministrados con fines de experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia.
- Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia.
- Ley 32/2007, de 7 de noviembre, para el cuidado de los animales, su explotación, transporte, experimentación y sacrificio.
- Real Decreto 1201/2005, de 10 de octubre, sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos.
- Real Decreto 664/1997, de 12 de mayo, sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo.
- Directiva Europea de 1986 (86/609/CEE), sobre protección de animales vertebrados utilizados con fines experimentales y otros fines científicos.
- Orden de 13 de octubre de 1989 por la que se establecen las normas de registro de los establecimientos de cría, suministradores y usuarios de animales de experimentación de titularidad estatal, así como las de autorización para el empleo de animales en experimentación, en desarrollo del Real Decreto 223/1988, de 14 de marzo.
- Real Decreto 223/1988, de 14 de marzo, sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos.

RESULTADOS

5. Resultados

Los resultados obtenidos se expresan en diversas tablas y figuras a lo largo de este apartado.

Tabla 9. *Fármacos aplicados y distintos tiempos de reperfusión*

	Sin Reperfusión (TIEMPO 1= T1)	Reperfusión 24 horas (TIEMPO 2= T2)
Ningún fármaco	A1	A2
AAS	B1	B2
Clopidogrel	C1	C2
Laparotomía (grupo control)		D

5.1 Mortalidad

Los animales fallecidos se excluyen del análisis estadístico y se sustituyen por otros. A continuación se desglosa los animales fallecidos en cada grupo (tabla 10).

Tabla 10. *Mortalidad en los diferentes grupos de animales*

	ISQUEMIA 60 MINUTOS	
	SIN REPERFUSIÓN	REPERFUSIÓN 24 HORAS
SIN FÁRMACO	0	6
FÁRMACO 1	0	6
FÁRMACO 2	0	1

En el grupo de isquemia 60 minutos y sin reperfusión no falleció ningún animal. Dentro del grupo de isquemia 60 minutos y reperfusión de 24 horas fallecieron: 6 animales del grupo al que no se le aplicó fármaco alguno, 6 animales del grupo tratado con AAS y uno del grupo tratado con clopidogrel.

5.2 Altura de la vellosidad

En la siguiente tabla (tabla 11) se exponen las diferentes mediciones obtenidas en cuanto a la altura de la vellosidad en yeyuno de cada grupo de animales. Los datos se miden en micras. En cada grupo se utilizaron 6 animales, excepto en el grupo control en que se utilizaron 5. Se extrajeron 3 mediciones de cada uno de los grupos.

Tabla 11. *Altura de la vellosidad en yeyuno (en micras)*

	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D
1	166,18	259,06	393,25	187,7	251,39	514,1	463
	153,43	310,92	272,89	197,75	306,73	454,47	460
	217,96	313,17	276,75	147,71	475,81	482,54	441
2	385,97	308,32	225,57	360,39	552,89	372,57	447
	347,54	311,81	274,21	418,81	587,21	378,11	482
	287,02	395,54	343,4	467,3	447,98	308,59	459
3	333,79	157,24	280,41	446,53	521,97	456,76	471
	348,6	216,19	498,74	482,47	525,59	552,87	504
	355,06	248,33	416,94	476,86	527,57	527,9	433
4	210,71	290,77	516,63	311,05	361,86	588,49	463
	181,77	319,31	434,77	257,09	415,89	527,35	451
	175,71	323,05	477,85	209,63	459,34	604,25	479
5	351,37	232,62	340,82	432,42	385,2	396,62	455
	314,18	273,61	336,37	586,11	368,05	406,23	468
	425,94	285,84	346,14	494,92	394,37	360,54	453
6	413,52	332,54	337,55	347,15	358,92	507,54	
	415,45	232,39	342,14	368,34	339,8	396,12	
	362,93	305,64	355,18	432,4	301,53	447,71	

Se expresan los resultados obtenidos del análisis estadístico para la altura de las vellosidades en yeyuno; así como las comparaciones de los grupos con los test estadísticos indicados en cada caso tanto para los grupos en los que no se realizó reperfusión como en los grupos en los que se realizó reperfusión de 24 horas (tabla 12).

Tabla 12. *Parámetros y diferencias estadísticas de la altura de la vellosidad en yeyuno (en micras)*

Grupos	Media	DE	IC 95%		ANOVA	DMS	Prueba T para igualdad de medias	Prueba de Mann-Whitney
A1	302,62	93,85	204,13	401,11	0,08			
B1	359,42	69,21	286,79	432,06				
C1	421,23	86,74	330,20	512,26				
D	461,93	17,61	452,18	471,69			D-B1 0,015 D-C1 0,304	D-A1 <0,001
A2	284,24	45,04	236,97	331,51	0,014	A2-B2 0,129 B2-C2 0,098 A2-C2 0,004		
B2	368,03	125,90	235,91	500,16				
C2	460,15	81,12	375,02	545,28				
D	461,93	17,61	452,18	471,69			D-A2 <0,001 D-B2 0,128 D-C2 0,96	

Del análisis estadístico de la altura de la vellosidad podemos resumir:

- Para tiempo 1: No existen diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos de estudio. Sin embargo, la altura de la vellosidad es significativamente menor en los grupos A1 y B1 respecto al grupo control (D).

- Para tiempo 2: si que existen diferencias estadísticamente significativas entre A2, B2 y C2. Realizando comparaciones entre cada uno de los grupos, se observan diferencias estadísticamente significativas entre A2-C2, y al comparar las medias entre los dos grupos podemos concluir que aplicar clopidogrel tras la isquemia mejora la altura de la vellosidad respecto a no aplicar ningún fármaco. Al comparar los resultados con el grupo control se observan diferencias estadísticamente significativas entre D-A2.

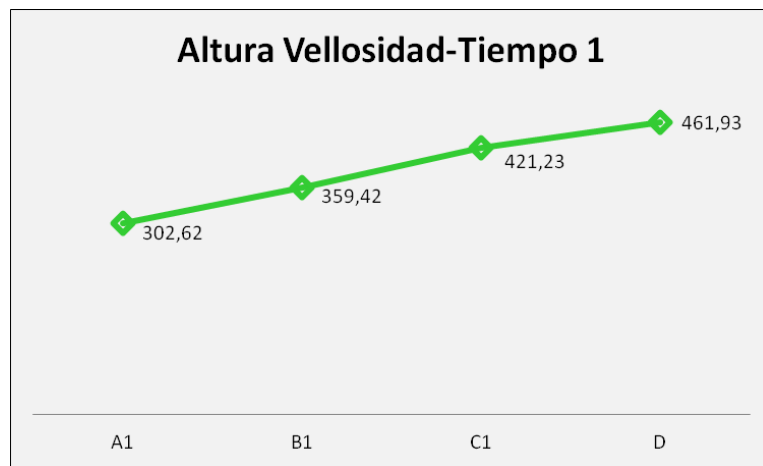


Figura 14. Media altura vellosidades en yeyuno (en micras). Tiempo 1

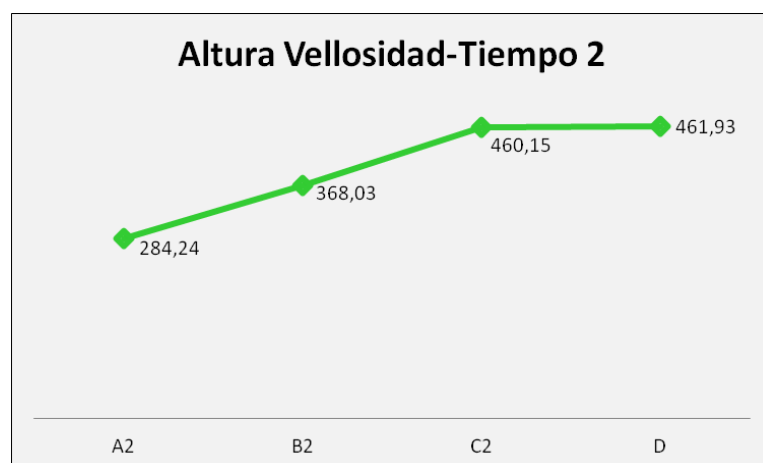


Figura 15. Media de altura vellosidades en yeyuno (en micras). Tiempo 2

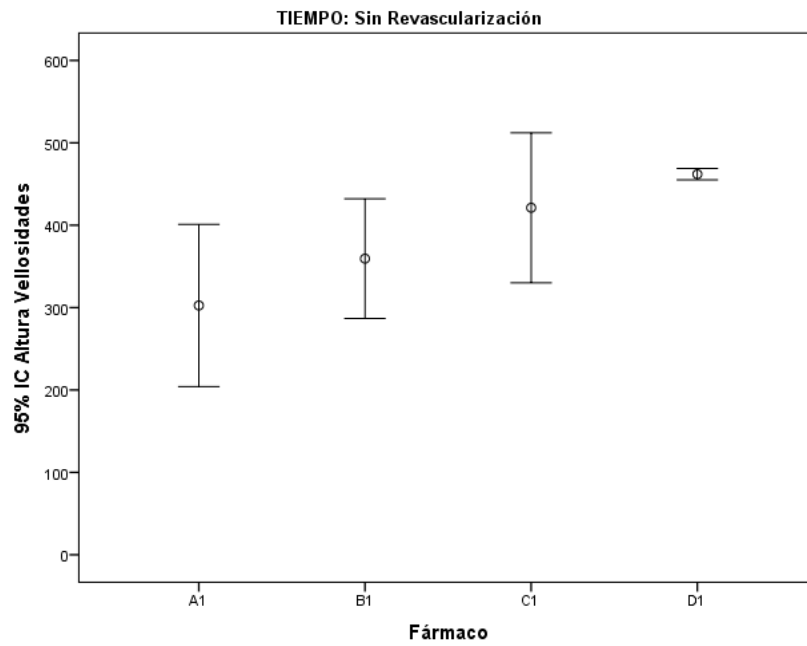


Figura 16. IC 95% altura vellosidades en yeyuno (en micras). Tiempo 1

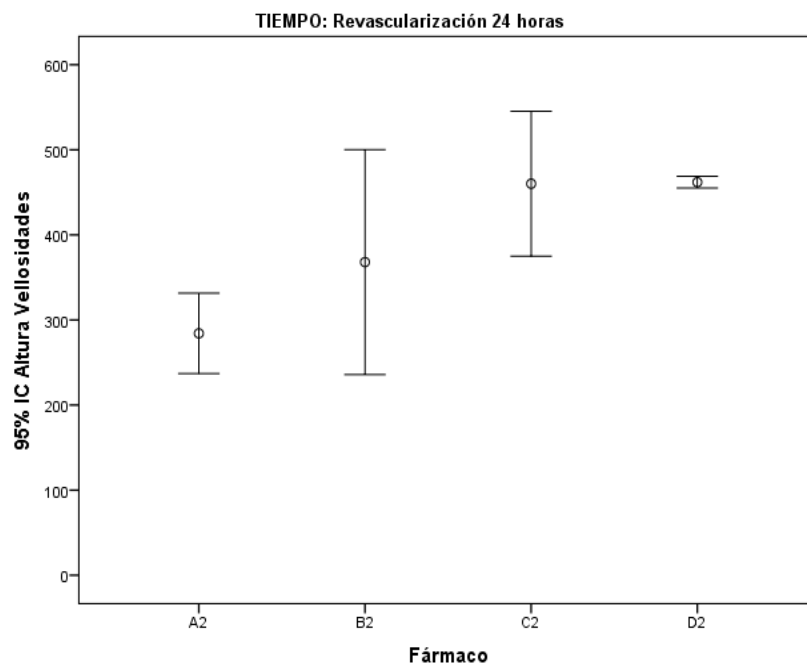


Figura 17. IC 95% altura vellosidades en yeyuno (en micras). Tiempo 2

Se representan los resultados obtenidos para la altura de la vellosidad en íleon en cada uno de los grupos estudiado (tabla 13). En cada grupo se analizaron 6 animales, excepto en el grupo control en el que se analizaron 5. De cada grupo de animal se recogieron 3 mediciones por cada animal. Los datos se expresan en micras.

Tabla 13. *Altura de la vellosidad en íleon (en micras)*

	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D
1	360,41	323,22	345,54	327,62	303,12	224,89	248
	339,62	452,09	352,1	363,06	302,71	327,07	222
	330,46	350,22	371,72	455,11	371,64	360,59	333
2	230,96	219,89	327,47	476,47	376,51	256,23	351
	260,99	192,65	527,76	415,41	248,2	264,9	273
	396,6	215,1	463,13	402,2	414,04	337,87	319
3	432,92	372,75	255,41	204,17	411,98	309,79	391
	450,31	235,99	329,32	236,9	401,57	311,98	311
	452,57	240,43	360,63	307,49	364,45	462,45	308
4	333,24	393,28	358,36	353,4	281,54	423,92	378
	352,9	277,7	425,44	393,58	286,99	330,02	352
	312,58	277,41	348,86	394,82	301,85	237,19	274
5	462,84	441,11	321,7	211,36	338,72	361,94	316
	441,13	435,99	318,74	138,91	447,2	464,05	308
	458,93	384,95	495,22	172,43	390,53	354,99	310
6	366,39	322,06	321,84	203,36	465	416,84	
	331,98	363,12	399,38	213,91	482,5	407,72	
	408,55	367,44	318,94	227,19	452,98	283,79	

Se exponen los datos estadísticos analizados en todos los grupos de animales para los dos grupos de reperusión (tiempo 1 y 2) para la altura de la vellosidad en íleon. También se expresan los datos obtenidos de los

diferentes análisis estadísticos utilizados al comparar los distintos grupos (tabla 14).

Tabla 14. *Parámetros y diferencias estadísticas de la altura de la vellosidad en íleon (en micras)*

Grupos	Media	DE	IC 95%		ANOVA	Test de Welch	Prueba T para igualdad de medias
A1	373,52	63,60	306,78	440,27	0,987		
B1	368,97	41,68	325,24	412,71			
C1	368,97	369,20	303,83	434,12			
D	312,93	45,83	287,55	338,31			D-A1 0,024 D-B1 0,018 D-C1 0,033
A2	325,85	74,27	247,91	403,80	0,737		
B2	305,41	105,74	194,44	416,38			
C2	340,90	41,12	297,74	384,06			
D	312,93	45,83	287,55	338,31			D-A2 0,631 D-B2 0,872 D-C2 0,210

En cuanto a los datos resultantes del análisis estadístico podemos resumir:

- Que para Tiempo 1: no existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio y si que existen entre cada grupo comparado con el grupo control.
- Que para Tiempo 2: No existen diferencias estadísticamente significativas ni entre A2, B2 y C2 ni tampoco al comparar cada uno de estos grupos con el grupo control.

Si se hace referencia a la media obtenida en cada grupo, se puede decir que los grupos en que no hay reperfusión la no aplicación de fármaco, así como la aplicación de fármaco (bien AAS o bien Clopidogrel) tienen todos ellos una media para la altura de la vellosidad mayor que en el grupo control, sin llegar a existir diferencias estadísticamente significativas. En el grupo que se realiza reperfusión de 24 horas ocurre lo mismo (excepto para el grupo B2), siendo en este caso el grupo al que se le administra clopidogrel el que presenta mayor altura de la vellosidad.

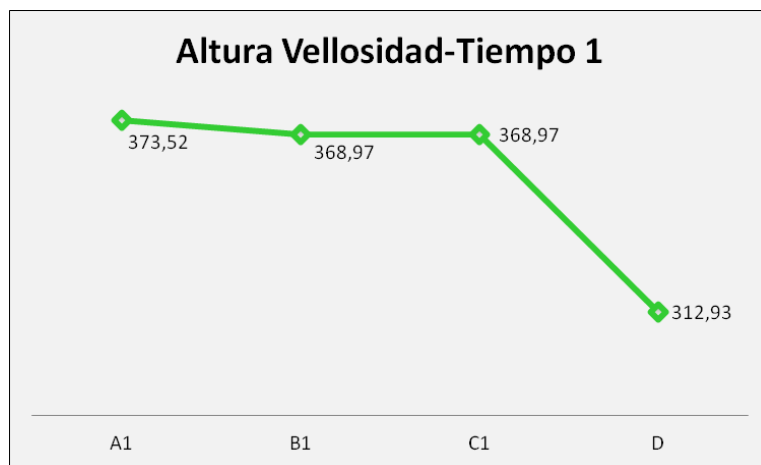


Figura 18. *Media de altura vellosidades en íleon (en micras). Tiempo 1*

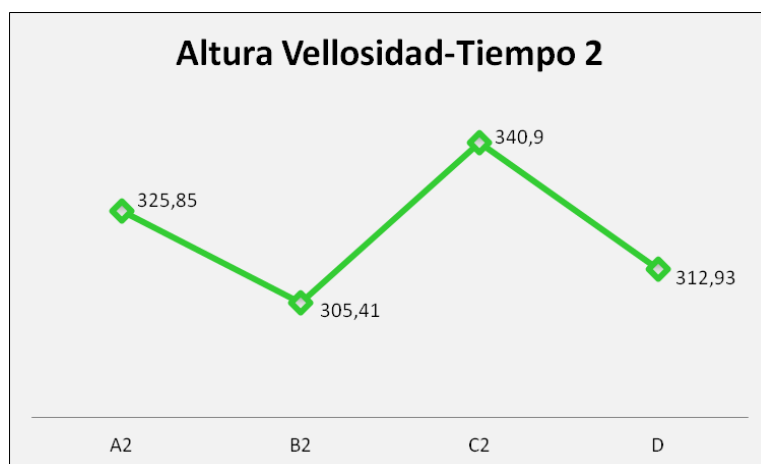


Figura 19. *Media de altura vellosidades en íleon (en micras). Tiempo 2*

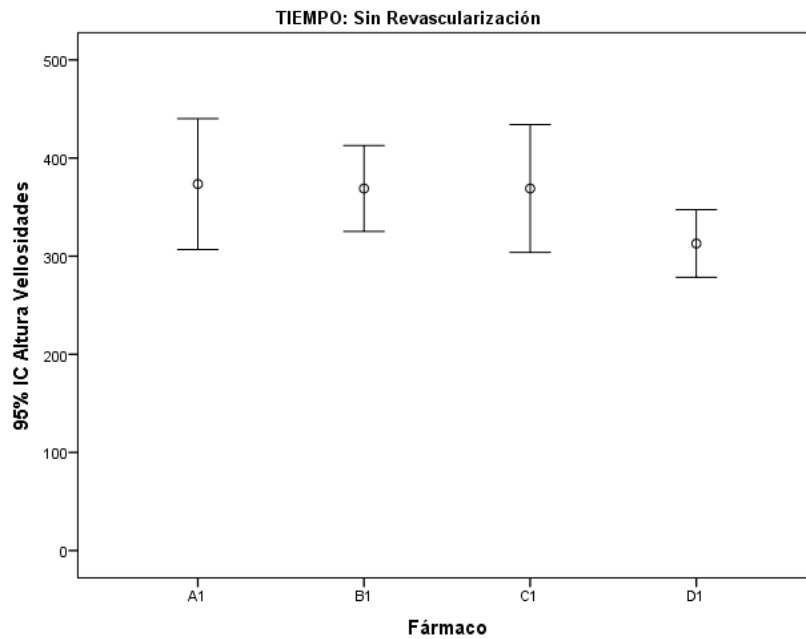


Figura 20. IC 95% altura vellosidades en íleon (en micras). Tiempo 1

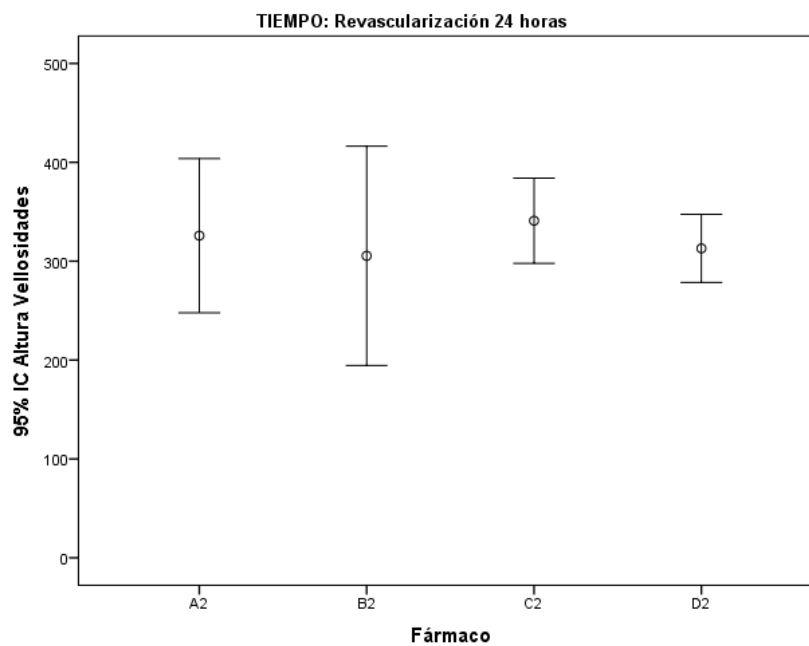


Figura 21. IC 95% altura vellosidades en íleon (en micras). Tiempo 2

5.3 Anchura de la velloidad

Se observan las diferentes mediciones obtenidas en cuanto a la anchura de la velloidad en yeyuno de cada grupo de animales. Los datos se miden en micras. En cada grupo se utilizaron 6 animales, excepto en el grupo control en que se utilizaron 5. Se extrajeron 3 mediciones de cada uno de los grupos (tabla 15).

Tabla 15. *Anchura de la velloidad en yeyuno (en micras)*

	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D
1	221,2	97,96	102,6	84,18	128,03	125,1	100
	202,04	91,43	115,07	101,88	130,38	102,18	160
	181,34	89,35	118,42	78,35	101,67	160,71	186
2	161,43	372,51	102,71	125,1	135,8	59,38	96
	134,9	215,92	150,09	105,81	91,75	74,82	145
	93,83	164,23	117,41	118,16	83,08	75,11	179
3	89,07	104,48	154,98	162,33	104,61	164,52	115
	101,98	73,14	97,03	131,7	112,22	165,99	153
	79,59	85,92	125,5	114,08	55,68	84,75	176
4	154,61	124,25	134,43	102,69	132,99	85,29	163
	114,43	106,82	133,62	121,9	92,49	104,38	176
	133,54	114,08	166,45	91,63	114,61	131,61	182
5	97,99	150,46	99,98	116,05	148,87	179,04	160
	83,91	75	84,49	123,39	88,65	123,97	155
	125,56	121,24	174,45	158,84	165,67	101,54	167
6	132,4	153,16	86,03	68,64	150,49	105,64	
	109,72	76,58	143,29	99,65	122,66	110,18	
	105,69	113,59	88,65	93,6	138,53	84,4	

Se expresan los resultados obtenidos del análisis estadístico así como las comparaciones de los grupos con los test estadísticos indicados en cada caso para la anchura de la vellosidad en yeyuno y para ambos tiempos de reperusión (tabla 16).

Tabla 16. *Parámetros y diferencias estadísticas de la anchura de la vellosidad en yeyuno (en micras)*

Grupos	Media	DE	IC 95%		ANOVA	Kruskal-Wallis	Prueba T para igualdad de medias	Prueba de Mann-Whitney
A1	129,06	39,16	87,98	170,16	0,712			
B1	121,95	13,41	107,88	136,03				
C1	116,57	17,88	97,80	135,33				
D	154,20	28,79	138,25	170,14			D-A1 0,119	D-B1 0,024 D-C1 0,013
Grupos	Media	Mediana	P ₂₅	P ₇₅	ANOVA	Kruskal-Wallis	Prueba T para igualdad de medias	Prueba de Mann-Whitney
A2	129,45	114,74	91,64	149,40		0,96		
B2	111,00	110,88	87,93	133,58				
C2	113,24	118,21	92,49	135,66				
Grupos	Media	DE	IC 95%		ANOVA	Kruskal-Wallis	Prueba T para igualdad de medias	Prueba de Mann-Whitney
D	154,20	28,79	138,25	170,14				D-A2 0,087 D-B2 0,008 D-C2 0,013

Tras realizar el análisis estadístico de la anchura de la vellosidad en yeyuno se observa que para los dos tiempos de estudio sólo existen diferencias

estadísticamente significativas entre los dos grupos que reciben tratamiento y el grupo control (D-B1, D-C1 y D-B2, D-C2).

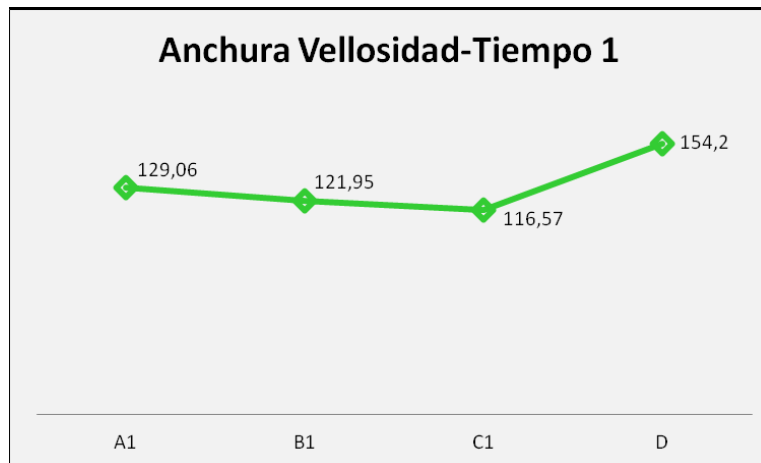


Figura 22. Media de anchura vellosidades en yeyuno (en micras). Tiempo 1

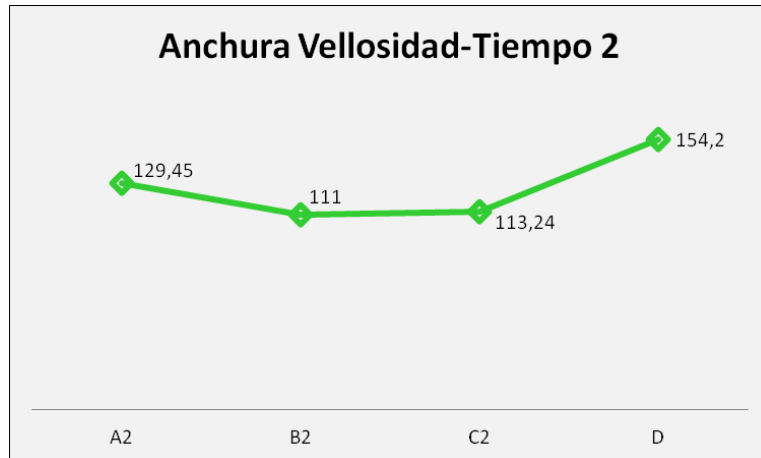


Figura 23. Media de anchura vellosidades en yeyuno (en micras). Tiempo 2

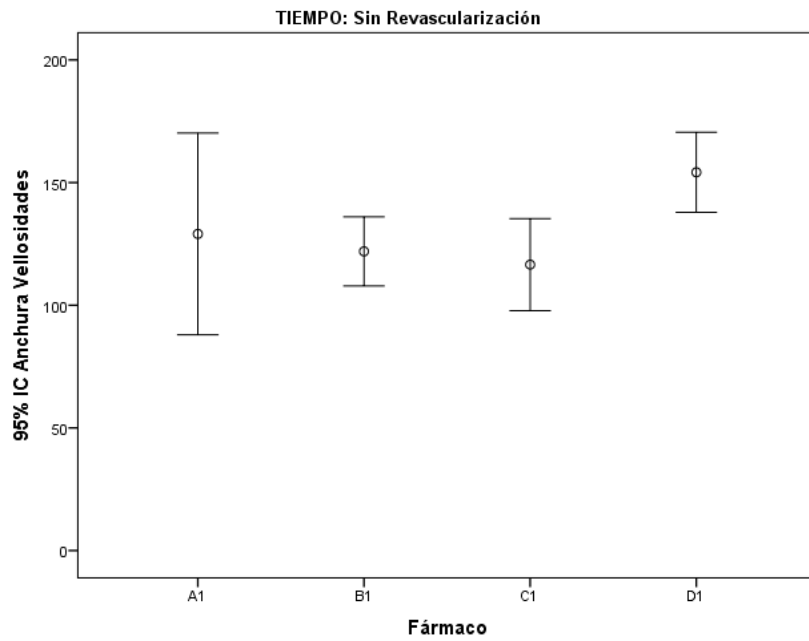


Figura 24. IC 95% anchura velloidades en yeyuno (en micras). Tiempo 1

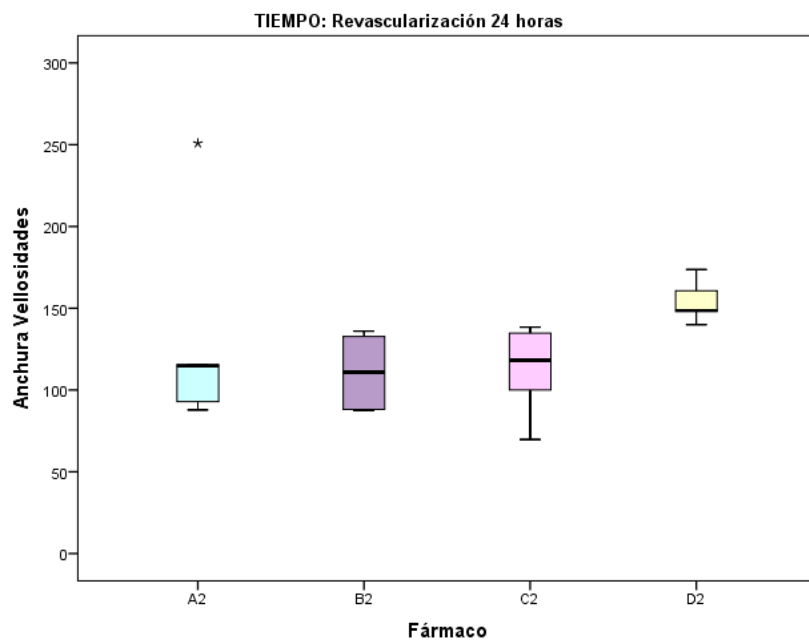


Figura 25. Percentil 25-75 anchura velloidades en yeyuno (en micras).
Tiempo 2

Se describen los datos recogidos de las mediciones obtenidas de cada uno de los grupos estudiados para la anchura de las vellosidades en íleon. En cada grupo se utilizaron 6 animales (excepto en el grupo control en el que se utilizaron 5). Se realizaron 3 determinaciones de dicho parámetro en cada uno de los animales. Los datos se miden en micras (tabla 17).

Tabla 17. *Anchura de la vellosidad en íleon (en micras)*

	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D
1	111,75	148,62	116,76	82,26	66,68	123,43	96
	227,23	111,78	108,61	76,93	75,65	99,32	101
	123,44	92,82	105,33	85,02	57,14	124,2	115
2	91,73	136,56	109,65	111,51	115,33	160,8	112
	144,18	93,26	109,4	67,87	64,7	177,83	141
	119,77	64,43	79,99	98,5	94,06	97,75	130
3	88,6	81,1	99,81	111,33	74,22	226,91	108
	72,85	74,63	124,11	97,23	75,25	135,46	136
	153,03	174,83	101,12	127,34	67,37	188,18	130
4	138,75	115,94	51,06	125,24	93,49	137,55	158
	109,19	88,5	61,43	155,3	109,07	116,48	163
	95,22	11,51	69,45	130,05	75,42	181,36	148
5	72,29	160,1	63,27	70,15	85,39	140,19	133
	58,89	206,8	50,03	82,94	117,94	130,08	125
	83,37	172,53	51,74	65,06	113,68	93,87	147
6	57,25	92,38	62,05	163,57	76,62	170,74	
	61,32	169,57	67,58	156,79	73,09	169,26	
	66,39	99,32	82,73	223,95	80,07	144,96	

Se exponen los resultados estadísticos obtenidos al analizar los datos de la anchura de la vellosidad en íleon. Se observan los datos correspondientes a estadística descriptiva y los datos de los test utilizados al comparar unos

grupos con otros tanto entre los grupos en los que no se realizó reperfusión como en los grupos en los que se realizó reperfusión de 24 horas (tabla 18).

Tabla 18. *Parámetros y diferencias estadísticas de la anchura de la vellosidad en íleon (en micras)*

Grupos	Media	DE	IC 95%		ANOVA	Prueba T para igualdad de medias	Prueba de Mann-Whitney
A1	104,46	33,40	64,41	139,50	0,310		
B1	84,12	24,85	58,04	110,19			
C1	84,17	14,82	68,62	99,72			
D	129,53	20,18	118,36	140,71		D-A1 0,046 D-B1 <0,001 D-C1 <0,001	
A2	87,37	85,02	71,64	103,10	0,231		
B2	112,84	102,30	70,10	155,57			
C2	145,47	145,30	119	171,93			
D	129,53	20,18	118,36	140,71			D-A2 0,213 D-B2 0,186 D-C2 0,213

Lo más relevante de la comparativa de los resultados obtenidos de la anchura de la vellosidad en íleon es:

- para Tiempo 1: existen diferencias estadísticamente significativas entre todos los grupos al compararlos con el grupo control (D-A1, D-B1 y D-C1). La mayor anchura entre los grupos a los que se les practicó isquemia es la del grupo al que no se le administró ningún fármaco.

- para Tiempo 2: no existen diferencias estadísticamente significativas entre ninguno de los grupos. En este caso, la mayor anchura es el grupo al que se le dio clopidogrel, incluso incluyendo el grupo control.

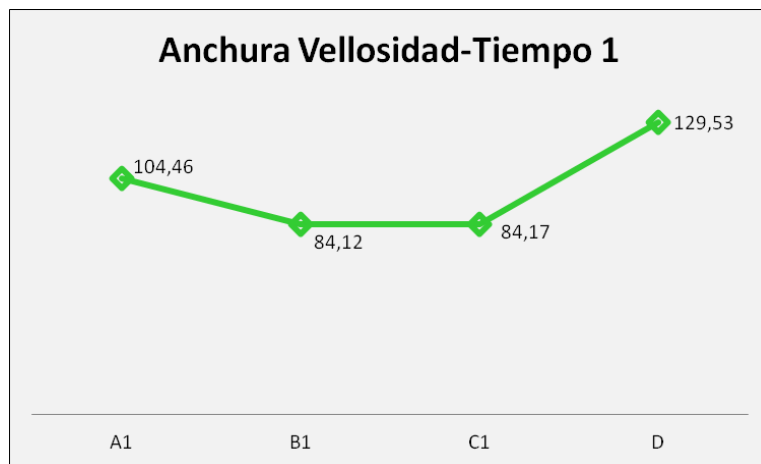


Figura 26. Media de anchura vellosoidad en íleon (en micras). Tiempo 1

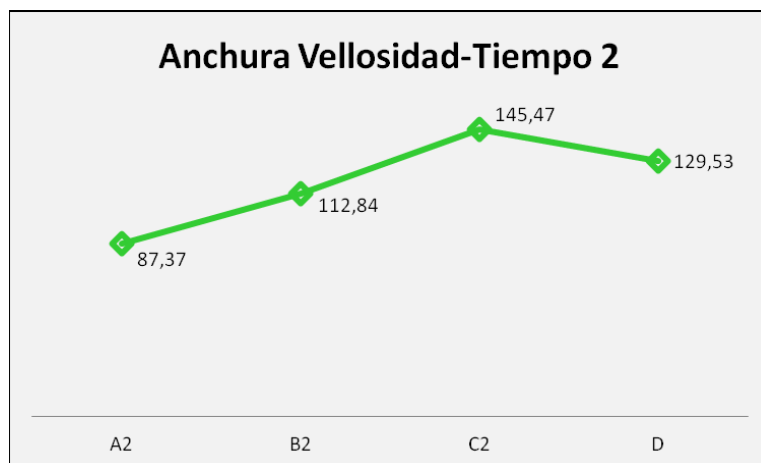


Figura 27. Media de anchura vellosoidades en íleon (en micras). Tiempo 2

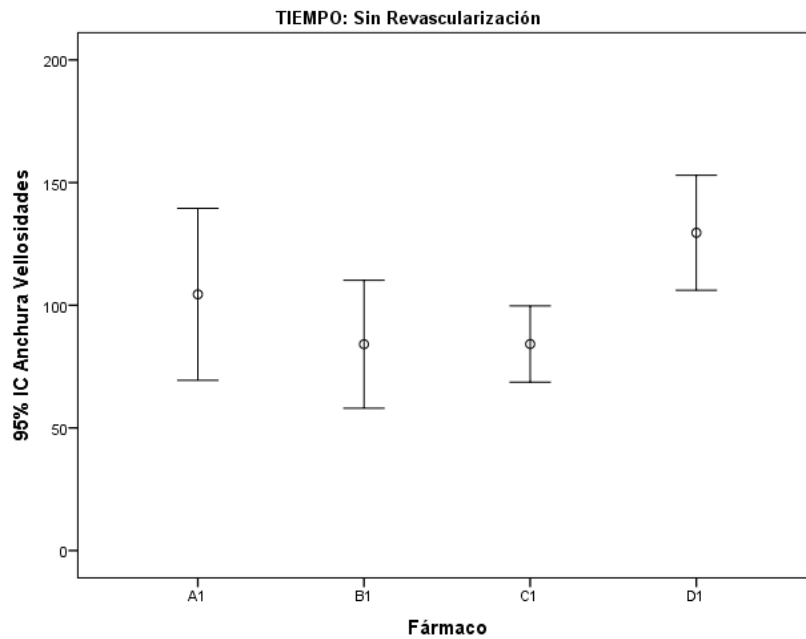


Figura 28. IC 95% anchura vellosidades en íleon (en micras). Tiempo 1

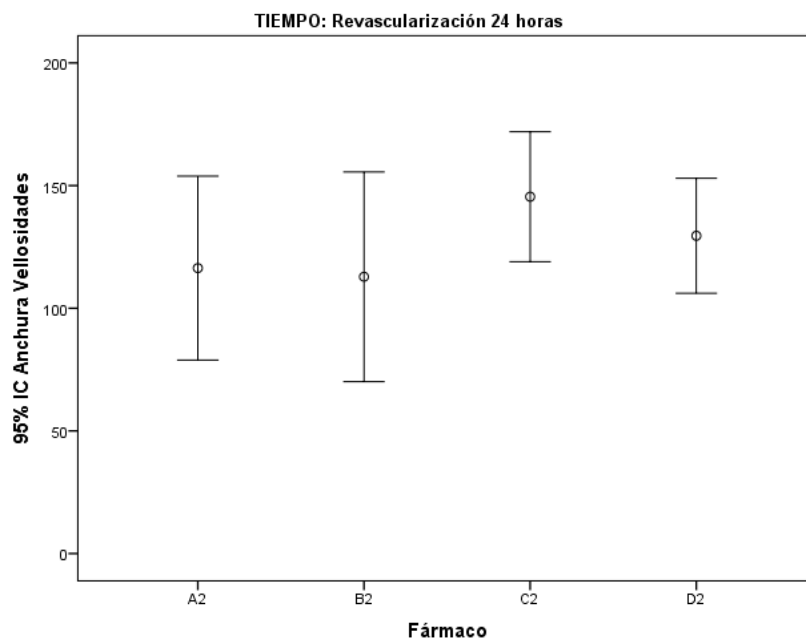


Figura 29. IC 95% anchura vellosidades en íleon (en micras). Tiempo 2

5.4 Grosor total de la pared

Se representan las diferentes mediciones obtenidas en cuanto al grosor total de la pared en yeyuno de cada grupo de animales. Los datos se miden en micras. En cada grupo se utilizaron 6 animales, excepto en el grupo control en que se utilizaron 5. Se extrajeron 3 mediciones de cada uno de los grupos (tabla 19).

Tabla 19. *Grosor total pared en yeyuno (en micras)*

	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D
1	472,6	620,14	755,83	530,57	465	597,2	810
	466,8	675,02	650,27	509,93	466,33	616,11	801
	489,86	632,36	650,95	480,14	608,77	586,62	854
2	637,76	722,65	598,44	577,89	721,73	610,97	725
	569,75	742,47	638,15	605,43	726,98	607,4	765
	544,57	762,75	627,98	600,17	717,64	613,72	783
3	652,72	554,67	761,59	644,35	665,6	685,88	729
	640,68	628,12	727,36	553,48	718,28	807,56	774
	609,39	641,58	737,3	590,33	671,29	850,68	802
4	497,5	595,76	744,07	676,15	572,61	779,5	806
	483,54	618,32	708,76	628,96	615,29	779,06	818
	457,26	634,96	737,43	586,64	594,88	782,43	801
5	535,54	566,49	509,52	731,09	605,22	776,92	792
	500,16	547,62	506,47	761,23	594,14	832,43	799
	613,69	527,88	522,62	793,61	605,94	746,05	806
6	660,88	655,35	484,46	634,33	595,78	783,07	
	666,35	678,33	567,87	605,92	625,41	759,73	
	677,05	582,18	458,95	487,11	587,64	809	

Se exponen los datos estadísticos analizados del grosor total de la pared en yeyuno en todos los grupos de animales para ambos tiempos de reperfusión.

Así mismo se expresan los datos obtenidos de los diferentes análisis estadísticos utilizados al comparar los distintos grupos (tabla 20).

Tabla 20. *Parámetros y diferencias estadísticas del grosor total pared en yeyuno (en micras)*

Grupos	Media	DE	IC 95%		ANOVA	Kruskal-Wallis	Prueba T para igualdad de medias	Prueba de Mann-Whitney
A1	565,34	78,96	482,46	648,22	0,387			
B1	632,67	105,23	522,24	743,10				
C1	619,92	73,91	542,35	697,49				
D	791,00	32,87	772,80	809,20			D-A1 0,001 D-B1 0,013 D-C1 0,002	
Grupos	Media	Mediana	P ₂₅	P ₇₅	ANOVA	Kruskal-Wallis	Prueba T para igualdad de medias	Prueba de Mann-Whitney
A2	632,59	627,48	565,60	699,58		0,064		
B2	610,96	595,27	558,56	663,43				
C2	723,57	780,85	608,02	780,85				
Grupos	Media	DE	IC 95%		ANOVA	Kruskal-Wallis	Prueba T para igualdad de medias	Prueba de Mann-Whitney
D	791,00	32,87	772,80	809,20			D-A2 <0,001 D-B2 <0,001	D-C2 0,035

Al analizar los datos obtenidos de los diferentes test estadístico podemos destacar:

- En tiempo 1: existen diferencias estadísticamente significativas entre todos los grupos de estudio y el grupo control (D-A1, D-B1 y D-C1).

- En tiempo 2: existen diferencias estadísticamente significativas entre cada uno de los grupos comparándoles con el grupo control (D-A2, D-B2 y D-C2).

Si se compara la media en todos los grupos de tratamiento se observa que en el grupo que no se realiza reperusión, la mayor anchura corresponde al grupo tratado con ácido acetilsalicílico y en el grupo que se aplicó reperusión de 24 horas, fue el grupo tratado con clopidogrel el que presentó mayor anchura.

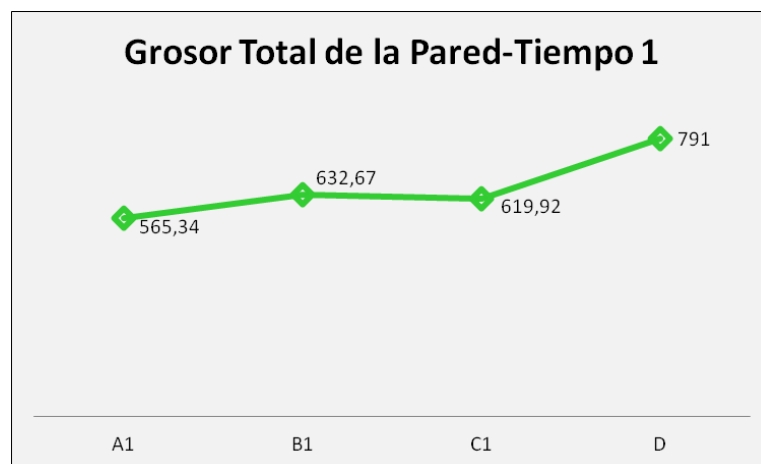


Figura 30. Media del grosor total pared en yeyuno (en micras). Tiempo 1

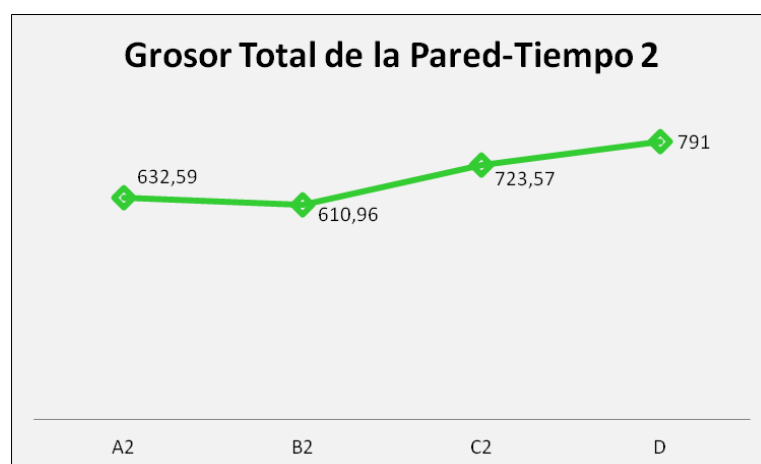


Figura 31. Media del grosor total pared en yeyuno (en micras). Tiempo 2

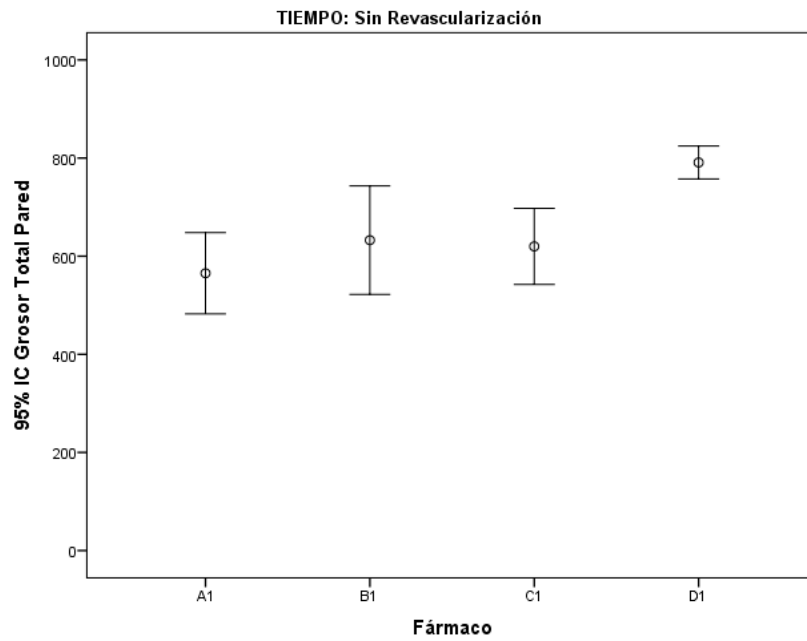


Figura 32. IC 95% del grosor total pared en yeyuno (en micras). Tiempo 1

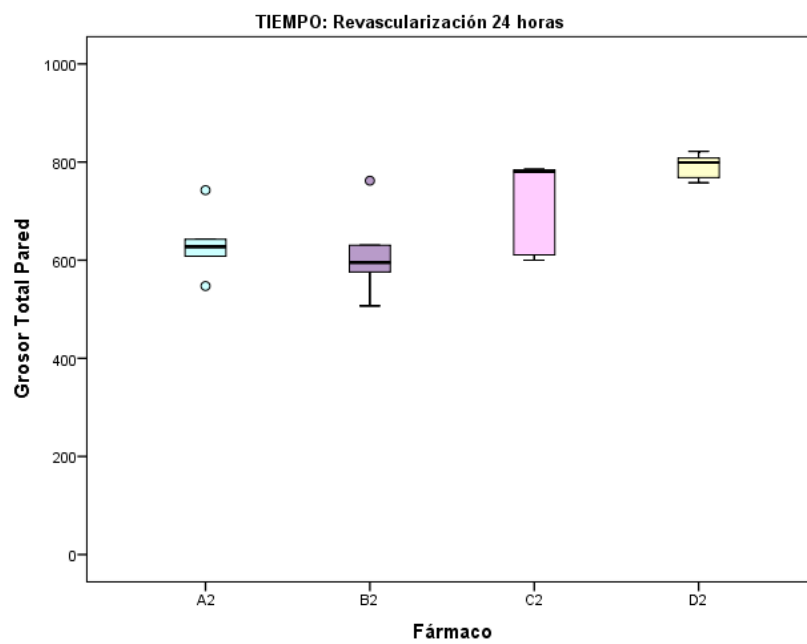


Figura 33. Percentil 25-75 del grosor total pared en yeyuno (en micras).
Tiempo 2

Se expresan las diferentes mediciones obtenidas en cuanto al grosor total de la pared en íleon de cada grupo de animales. Los datos se miden en micras. En cada grupo se utilizaron 6 animales, excepto en el grupo control en que se utilizaron 5. Se extrajeron 3 mediciones de cada uno de los grupos (tabla 21).

Tabla 21. Grosor total pared en íleon (en micras)

	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D
1	697,94	505,71	486,03	625,95	396,8	559,81	670
	685,89	590,03	527,29	601,38	361,89	578,13	699
	667,43	525,79	513,29	553,92	409,24	534,64	654
2	525,34	504,14	420,63	669,28	532,94	425,03	745
	552,1	516,1	676,61	634,78	542,4	443,03	690
	529,04	520,2	629,56	630,42	537,34	450,33	722
3	547,67	445,21	408	521,31	540,73	623,21	612
	568,48	429,77	491,14	557,99	597,19	633,11	623
	578,75	449,9	485,54	636,47	568,46	624,53	641
4	478,22	467,62	480,01	607,07	409,3	657,95	672
	540,35	458,89	544,69	613,85	429,28	609,88	664
	523,07	464,48	476,46	618,85	403,86	512,18	691
5	589,63	611,74	395,66	474,81	473,42	558,43	672
	565,3	590,05	443,64	457,61	586,1	669,26	685
	613,96	565,14	617,08	478,18	522,96	627,55	655
6	471,09	553,65	535,54	552,91	666,47	546,32	
	479,95	626,88	513,43	521,03	657,82	536,04	
	506,36	657,59	505,57	527,91	652,84	494,29	

Se expresan los datos estadísticos y los resultados de los distintos test empleados tras analizar los datos correspondientes al grosor total de la pared en íleon en los dos grupos de reperfusión -tiempo 1 y 2- (tabla 22).

Tabla 22. *Parámetros y diferencias estadísticas del grosor total pared en íleon (en micras)*

Grupos	Media	DE	IC 95%		ANOVA	Prueba T para igualdad de medias	Prueba de Mann-Whitney
A1	562,25	69,89	488,91	635,59	0,415		
B1	508,34	38,46	467,98	548,71			
C1	516,06	100,27	410,83	621,28			
D	673,00	34,89	659,68	692,32		D-A1 <0,001 D-B1 <0,001 D-C1 0,011	
A2	526,83	67,60	455,88	597,78	0,487		
B2	572,82	62,86	506,85	638,79			
C2	560,21	70,33	486,40	634,01			
D	673,00	34,89	659,68	692,32			D-A2 0,001 D-B2 0,001 D-C2 0,001

Si se observan los datos obtenidos podemos resumir que:

- en tiempo 1: existen diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control (D) y el resto de grupos estudiados (A1, B1 y C1). En este caso, el mayor valor de la media entre los grupos a los que se les practicó isquemia corresponde al grupo que no se le aplicó fármaco alguno.
- en tiempo 2: al igual que en tiempo 1, existen diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control (D) y el resto de grupos (A2, B2 y C2). En este caso el mayor valor de la media corresponde al grupo tratado con ácido acetilsalicílico, exceptuando el grupo control.

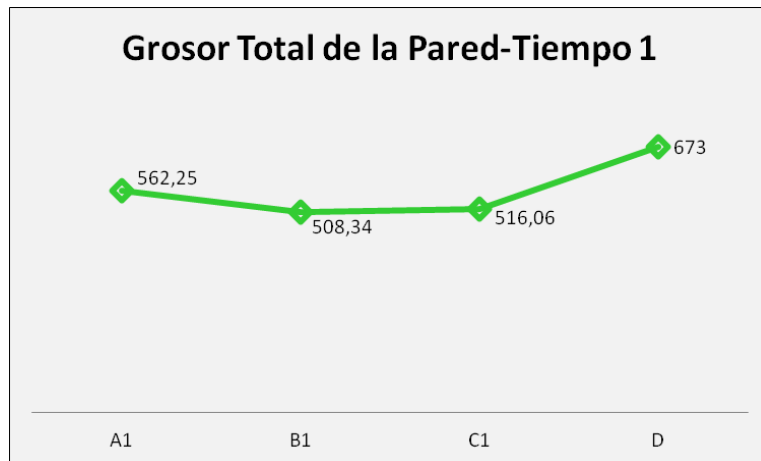


Figura 34. *Media del grosor total pared en íleon (en micras). Tiempo 1*

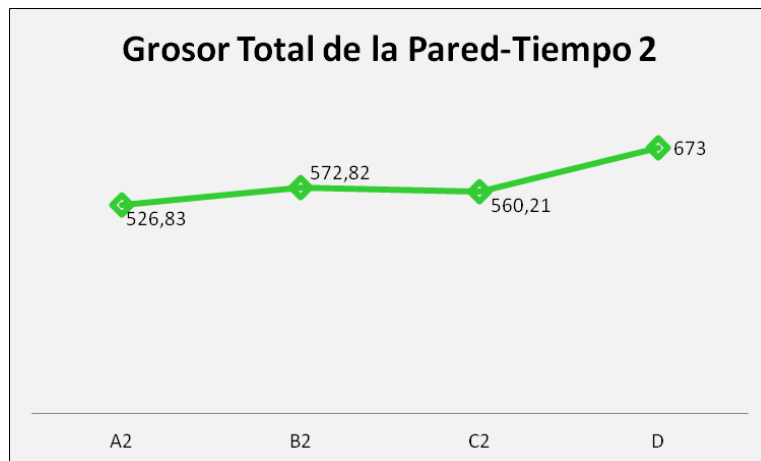


Figura 35. *Media del grosor total pared en íleon (en micras). Tiempo 2*

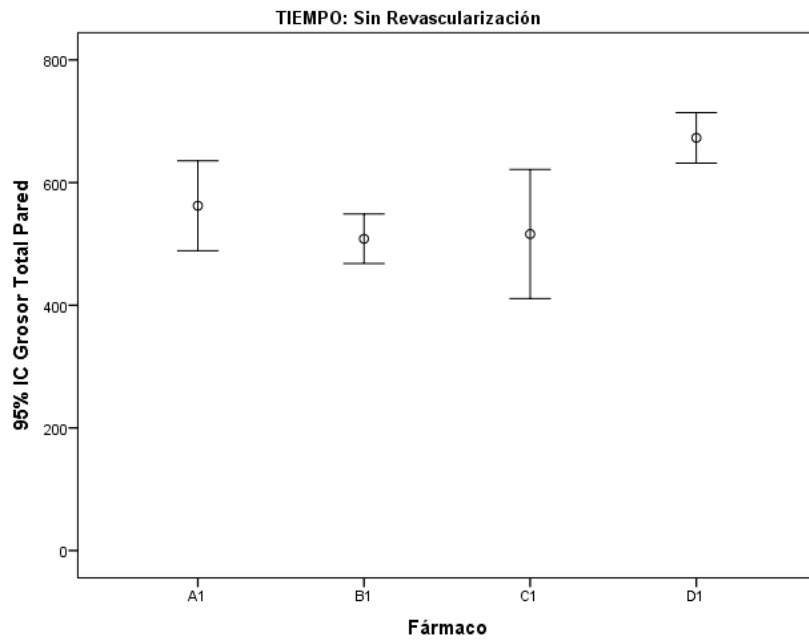


Figura 36. IC 95% grosor total pared en íleon (en micras). Tiempo 1

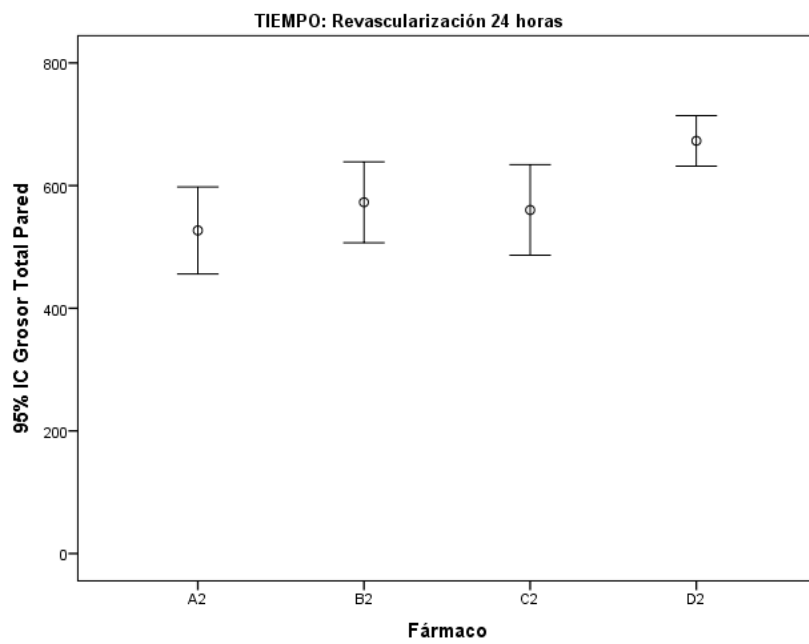


Figura 37. IC 95% grosor total pared en íleon (en micras). Tiempo 2

5.5 Profundidad de las criptas

Se representan las diferentes mediciones obtenidas en cuanto a la profundidad de las criptas en yeyuno de cada grupo de animales. Los datos se miden en micras. En cada grupo se utilizaron 6 animales, excepto en el grupo control en que se utilizaron 5. Se extrajeron 3 mediciones de cada uno de los grupos (tabla 23).

Tabla 23. *Profundidad criptas en yeyuno (en micras)*

	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D
1	176,39	183,44	200,34	222,89	97,74	6,47	209
	197,51	180,57	217,45	188,16	39,29	65,36	222
	127,79	160,53	206,51	140,7	9,5	5,37	229
2	116,32	210,1	264,93	116,03	11,8	137,79	175
	122,74	222,77	276,88	82,66	12,08	130,95	196
	153,36	208,14	199,69	15,6	126,24	189,05	211
3	191,98	203,8	342,98	79,74	11,08	136,28	166
	129,81	205,88	106,82	136,82	6,63	140,6	186
	125,58	183,04	218,3	161,18	6,12	190,86	206
4	156,39	202,52	121,41	209,05	48,72	5,95	210
	163,43	175,93	166,7	224,46	42,2	70,28	223
	159,71	167,47	160,83	205,35	10,51	6,18	205
5	11,8	181,22	19,27	155,37	122,46	379,97	219
	18,25	134,77	28,51	91,41	106,92	403,96	132
	6,85	140,06	14,07	160,1	114,24	388,76	202
6	147,04	166,92	7,83	151,31	107,87	141,85	
	164,12	280,25	75,71	156,92	155,93	187,91	
	183,74	107,2	6,12	84,02	161,44	186,65	

Se representa los datos estadísticos y los resultados de los diferentes test estadísticos correspondientes a la profundidad de las criptas en yeyuno en

ambos grupos de estudio -grupo sin reperusión y grupo de reperusión de 24 horas- (tabla 24).

Tabla 24. *Parámetros y diferencias estadísticas de profundidad criptas en yeyuno (en micras)*

Grupos	Media	Mediana	P ₂₅	P ₇₅	ANOVA	Kruskal-Wallis	Prueba T para igualdad de medias	Prueba de Mann-Whitney
A1	130,71	154,48	101,18	165,53		0,164		
B1	146,35	178,87	27,57	228,82				
C1	66,15	49,44	27,34	121,34				
Grupos	Media	Mediana	IC 95%		ANOVA	Kruskal-Wallis	Prueba T para igualdad de medias	Prueba de Mann-Whitney
D	199,40	206	185,21	213,59			D-B1 0,250 D-C1 0,001	D-A1 0,002
Grupos	Media	DE	IC 95%		ANOVA	Kruskal-Wallis	Prueba T para igualdad de medias	Prueba de Mann-Whitney
A2	184,14	20,86	162,26	206,04	0,685			
B2	143,43	49,37	91,63	195,24				
C2	154,12	133,36	14,18	294,07				
D	199,40	206	185,21	213,59			D-A2 0,212 D-B2 0,003 D-C2 0,446	

Se analizan los datos obtenidos y objetivamos:

- en tiempo 1: existen diferencias estadísticamente significativas entre D-A1 y D-C1. En este grupo el menor valor de la media corresponde al grupo tratado con clopidogrel.

- en tiempo 2: únicamente existen diferencias estadísticamente significativas entre D-B2.

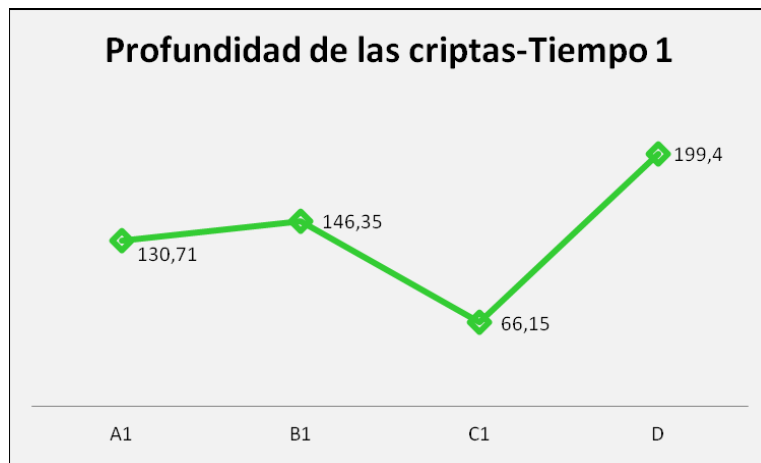


Figura 38. Media de profundidad criptas en yeyuno (en micras). Tiempo 1

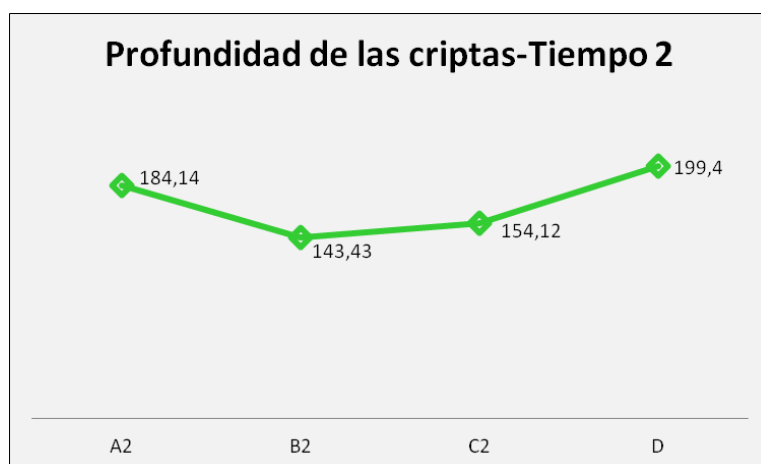


Figura 39. Media de profundidad criptas en yeyuno (en micras). Tiempo 2

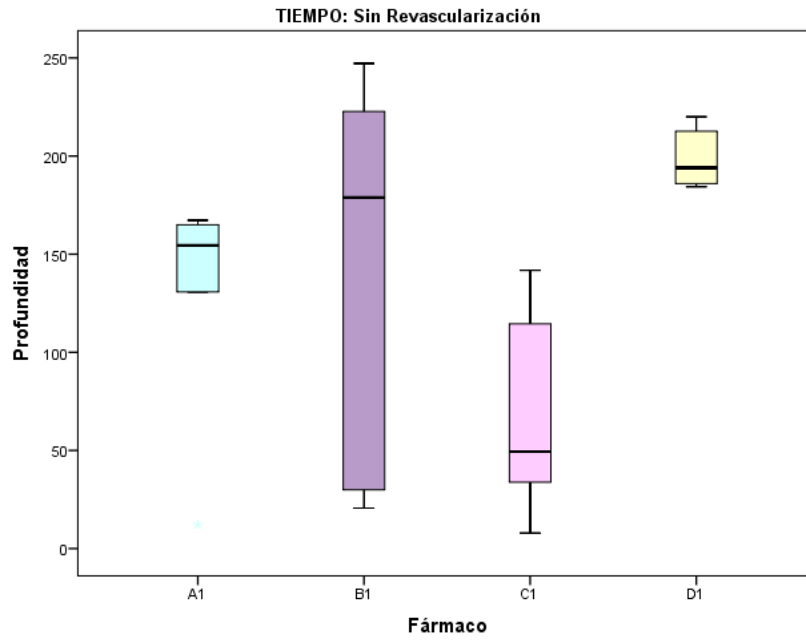


Figura 40. Percentil 25-75 profundidad criptas en yeyuno (en micras).
Tiempo 1

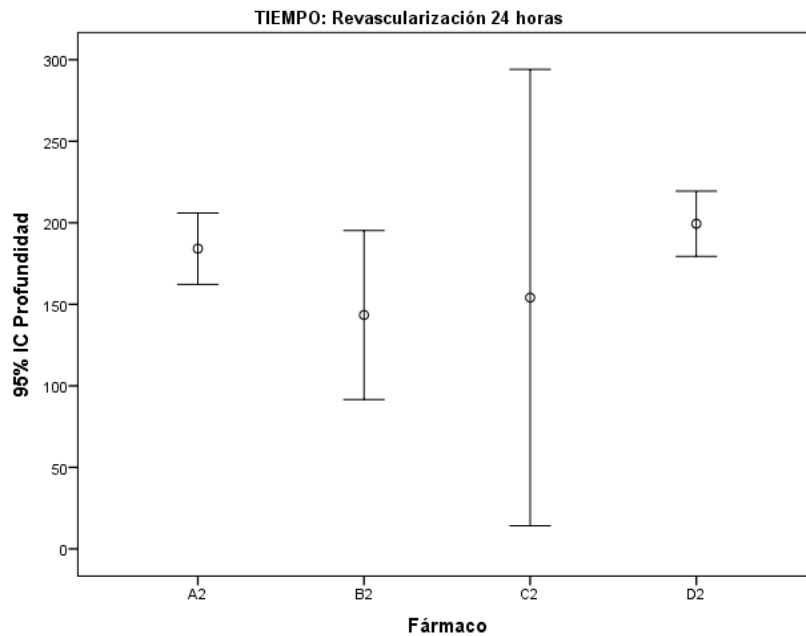


Figura 41. IC 95% profundidad criptas en yeyuno (en micras). Tiempo 2

Se expresan las diferentes mediciones obtenidas en cuanto a la profundidad de las criptas en íleon de cada grupo de animales. Los datos se miden en micras. En cada grupo se utilizaron 6 animales, excepto en el grupo control en que se utilizaron 5. Se extrajeron 3 mediciones de cada uno de los grupos (tabla 25).

Tabla 25. Profundidad criptas en íleon (en micras)

	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D
1	168,71	54,4	7	187,44	12,77	193,09	136
	172,54	12,55	28,03	120,41	16,24	115,48	121
	166,46	35,19	6,18	16,12	7	74,19	174
2	159,21	129,26	5,95	16,35	56,28	58,36	136
	184,27	197,89	17,52	62,32	178,64	63,98	217
	46,47	201,12	18,07	56,28	30,64	11,05	185
3	14,45	9,19	49,56	169,58	27,75	155,7	174
	20,95	125,74	91,86	161,63	38,1	152,95	245
	9,5	131,08	27,79	178,52	66,72	8,54	238
4	54,8	10,37	9,38	92,12	35,87	100,5	276
	95,43	116,86	6,01	55,35	34,3	101,35	284
	93,64	115,61	14,67	75,67	17,93	120,44	291
5	9,35	12,08	25,81	112,73	17,68	9,5	248
	9,38	20,75	33,62	164,06	16,76	6,18	233
	21,85	27,67	19,56	145,75	22,88	82,25	241
6	12,86	44,34	108,91	172,81	27,91	7,26	
	35,26	41,96	11,08	149,29	13,7	7,83	
	9,5	85	73,28	143,02	21,4	82,08	

Se recogen los datos resultantes del análisis estadístico y de los diversos test empleados referentes a la profundidad de las criptas en íleon para los

dos grupos de estudio: al que no se le aplica reperfusión y a los que se les aplica reperfusión de 24 horas (tabla 26).

Tabla 26. *Parámetros y diferencias estadísticas de la profundidad criptas en íleon (en micras)*

Grupos	Media	DE	IC 95%		ANOVA	Test de Welch	Prueba T para igualdad de medias
A1	71,37	66,87	1,19	141,55		0,434	
B1	30,79	23,73	5,89	55,70			
C1	35,70	28,13	6,18	65,21			
D	213,27	55,62	182,46	244,07			D-A1 <0,001 D-B1 <0,001 D-C1 <0,001
A2	76,17	55,56	17,86	134,48	0,30		
B2	115,52	48,75	64,36	166,69			
C2	75,04	43,14	29,77	120,31			
D	213,27	55,62	182,46	244,07			D-A2 <0,001 D-B2 0,001 D-C2 <0,001

Se puede observar:

- Que en tiempo 1: existen diferencias estadísticamente significativas entre D-A1, D-B1 y D-C1. Si se comparan las medias de cada uno de los 4 grupos, se ve una importante disminución de la media de la profundidad de las criptas en todos los grupos a los que se les aplica isquemia (A1, B1 y C1), siendo más acusada esta disminución de la media de la profundidad de las criptas en los grupos B1 y C1.

- Que en tiempo 2: existen diferencias estadísticamente significativas entre D-A2, D-B2 y D-C2. En este caso, se observa una diferencia en cuanto a las medias de la profundidad de las criptas entre los grupos en los que se aplica isquemia y el grupo control, no tan llamativa como en los grupos de tiempo 1 y los valores más inferiores corresponden a las medias de los grupos A2 y C2.

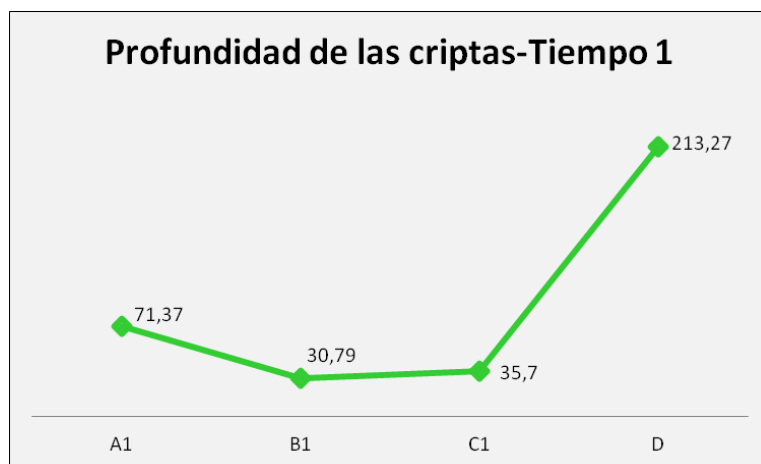


Figura 42. Media de profundidad criptas en íleon (en micras). Tiempo 1

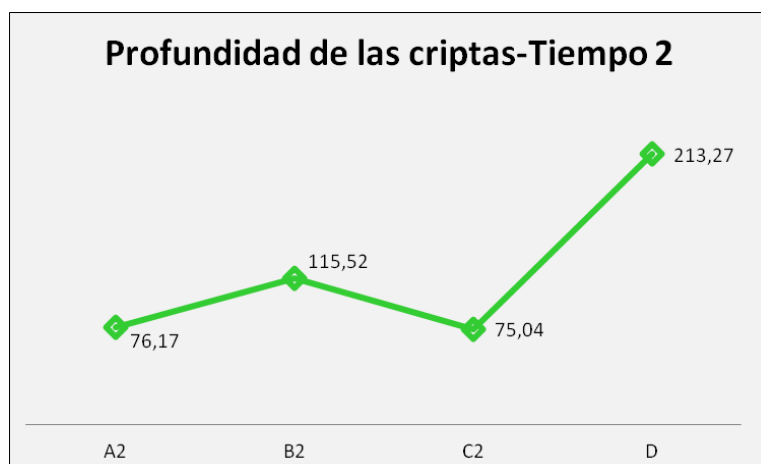


Figura 43. Media de profundidad criptas en íleon (en micras). Tiempo 2

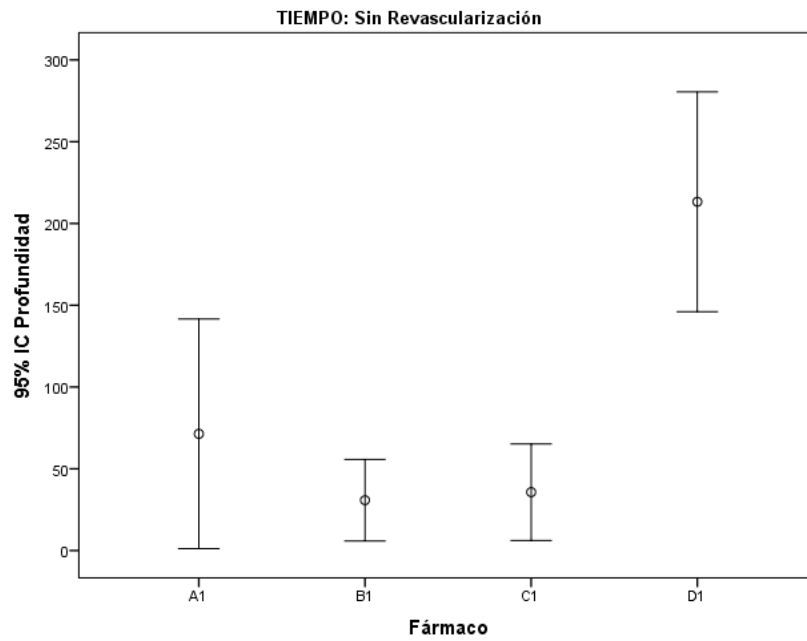


Figura 44. IC 95% profundidad criptas en íleon (en micras). Tiempo 1

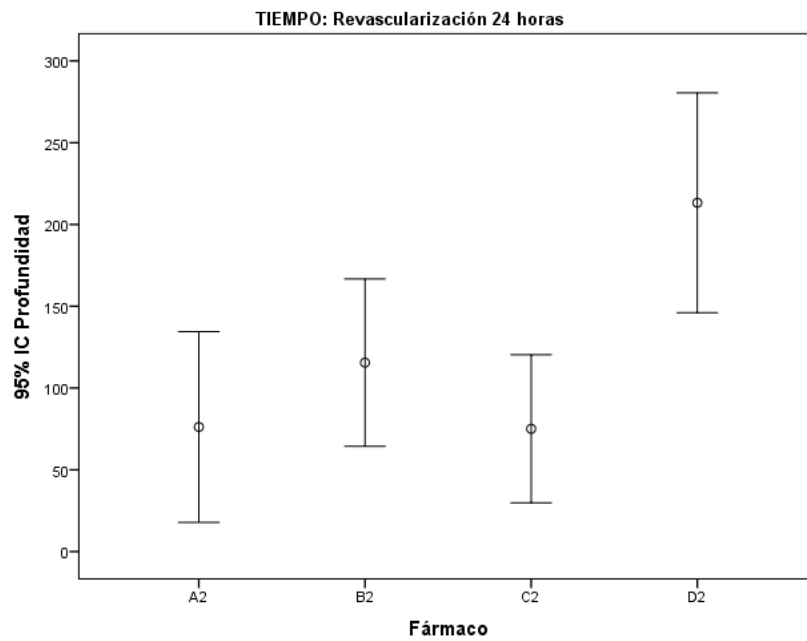


Figura 45. IC 95% profundidad criptas en íleon (en micras). Tiempo 2

5.6 Daño histológico de la mucosa

En la siguiente tabla están recogidos los datos de las diferentes mediciones obtenidas en cuanto al daño histológico de la mucosa en yeyuno de cada grupo de animales. Los datos se miden en micras. En cada grupo se utilizaron 6 animales, excepto en el grupo control en que se utilizaron 5. Se extrajeron 3 mediciones de cada uno de los grupos.

Tabla 27. *Daño histológico de la mucosa en yeyuno (grados de Chiu)*

	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D
1	3	4	3	1	5	1	0
	4	3	3	2	5	0	1
	4	3	3	2	3	1	1
2	1	2	1	2	1	0	0
	1	3	3	3	3	1	1
	3	3	0	1	3	1	1
3	1	1	5	2	1	1	1
	1	1	3	1	3	1	1
	3	1	5	1	3	1	1
4	3	1	3	3	3	1	1
	3	1	3	1	1	0	1
	4	1	5	2	3	1	0
5	5	1	2	1	4	1	1
	3	3	3	0	1	0	0
	5	1	3	1	3	1	1
6	1	1	5	1	3	0	
	1	0	5	1	3	1	
	3	3	3	2	2	0	

Se representan los datos obtenidos del análisis estadístico y de los diferentes test usados después de analizar los datos del daño histológico de la mucosa en yeyuno para los dos grupos de reperusión –tiempo 1 y 2- (tabla 28).

Tabla 28. *Parámetros y diferencias estadísticas del daño histológico de la mucosa en yeyuno (grados de Chiu)*

Grupos	Media	Mediana	P ₂₅	P ₇₅	Test de Welch	Kruskal -Wallis	DMS	Prueba de Mann-Whitney
A1	2,72	2,5	1,67	3,83		0,607		
B1	3,22	3,33	2,33	4,33				
C1	2,78	2,5	2,33	3,08				
Grupos	Media	Mediana	IC 95%		Test de Welch	Kruskal -Wallis	DMS	Prueba de Mann-Whitney
D	0,73	1	0,48	0,99				D-A1 <0,001 D-B1 <0,001 D-C1 <0,001
Grupos	Media	DE	IC 95%		Test de Welch	Kruskal -Wallis	DMS	Prueba de Mann-Whitney
A2	1,83	0,96	0,83	2,84	0,008		A2-B2 0,85	
B2	1,5	0,5	0,97	2,03			B2-C2 0,024	
C2	0,67	0,21	0,45	0,89			C2-A2 0,088	
D	0,73	0,46	0,48	0,99				D-A2 0,002 D-B2 0,004 D-C2 0,178

Al observar los resultados obtenidos podemos explicar:

- en tiempo 1: existen diferencias estadísticamente significativas entre D-A1, D-B1 y D-C1. Los resultados de las medias de los grupos en los que se

realiza isquemia (A1, B1 y C1) son mayores que el grupo control (D); lo que significa que hay mayor daño histológico tras la isquemia.

- en tiempo 2: hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos A2, B2 y C2. Comparando posteriormente estos grupos entre sí, observamos que únicamente existen diferencias estadísticamente significativas entre B2-C2. Los valores medios muestran que el daño histológico es menor en el grupo tratado con clopidogrel. Comparando los grupos en los que se practica isquemia con el grupo control, hay diferencias estadísticamente significativas entre D-A2 y D-B2. El grupo que tiene mayor valor de la media es al que se le realiza isquemia y no se aplica ningún fármaco, lo que se traduce por mayor daño histológico. Por el contrario el grupo al que se le realiza isquemia y se le aplica clopidogrel, tiene menor media que todos los otros grupos, incluido el grupo control. Esto demuestra que en el grupo tratado con clopidogrel hay menor daño histológico de forma global.

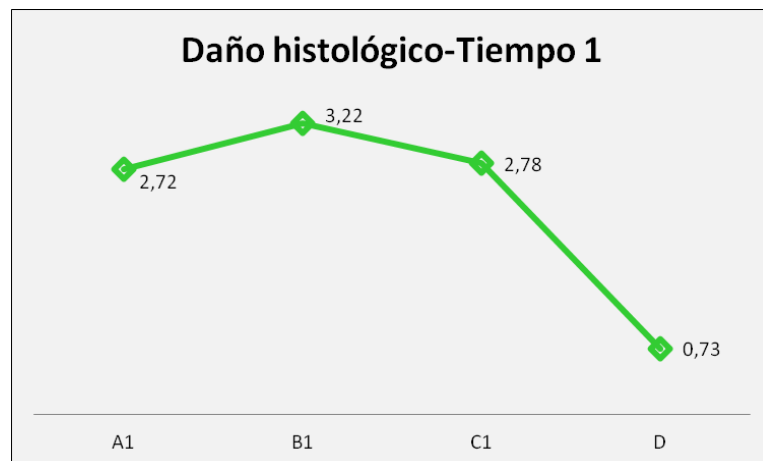


Figura 46. Media del daño histológico de la mucosa en yeyuno. Tiempo 1

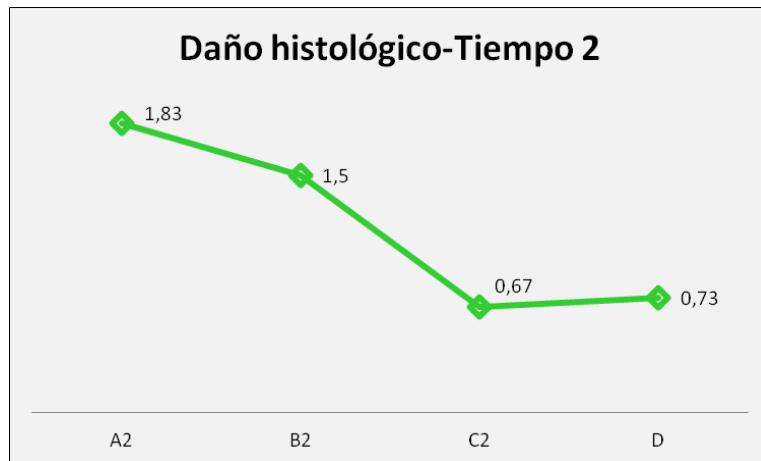


Figura 47. Media del daño histológico de la mucosa en yeyuno. Tiempo 2

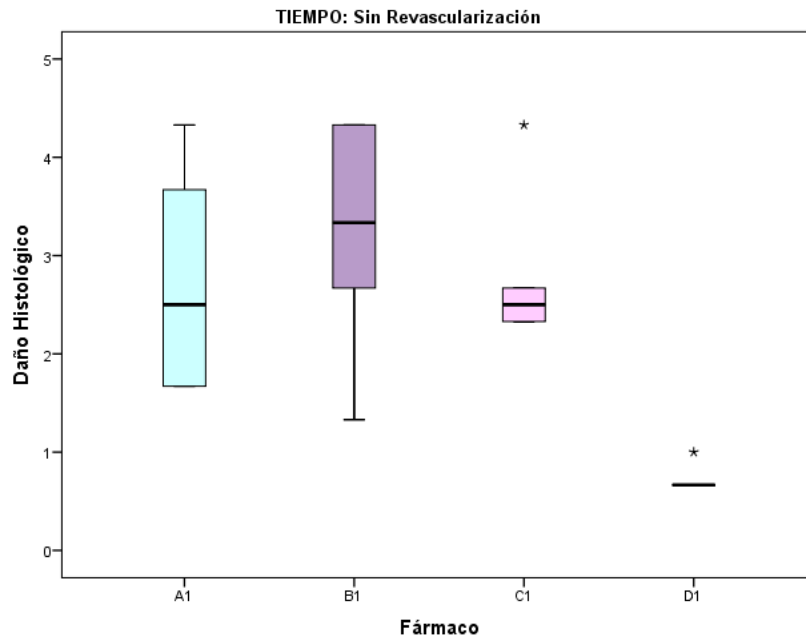


Figura 48. Percentil 25-75 daño histológico de la mucosa en yeyuno. Tiempo 1

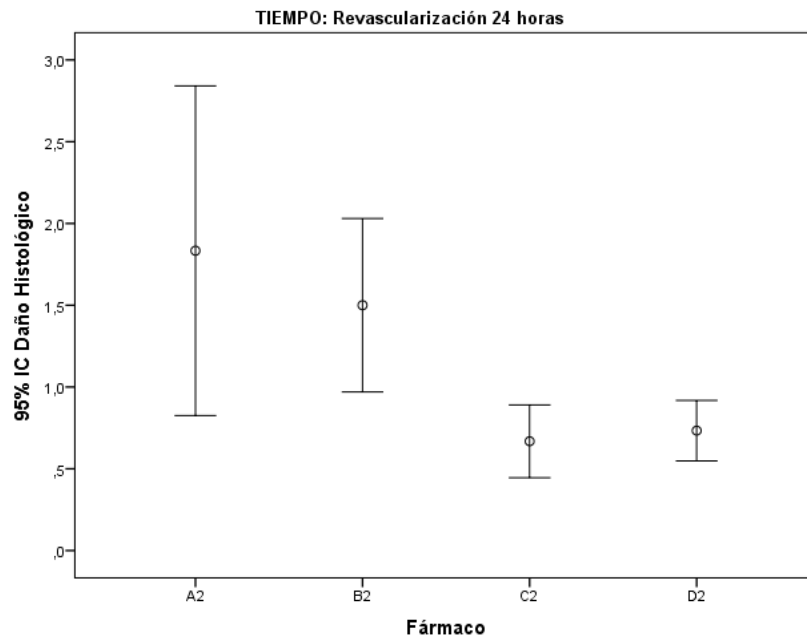


Figura 49. IC 95% daño histológico de la mucosa en yeyuno. Tiempo 2

Se ponen de manifiesto las diferentes mediciones obtenidas en cuanto al daño histológico de la mucosa en íleon de cada grupo de animales. Los datos se miden en micras. En cada grupo se utilizaron 6 animales, excepto en el grupo control en que se utilizaron 5. Se extrajeron 3 mediciones de cada uno de los grupos (tabla 29).

Tabla 29. *Daño histológico de la mucosa en íleon (grados de Chiu)*

	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D
1	5	1	3	1	5	5	0
	5	1	3	1	5	5	1
	5	1	3	1	5	1	1
2	5	0	3	1	3	1	1
	5	1	3	1	5	1	1
	5	1	5	1	3	1	0
3	5	1	5	1	5	1	1
	5	1	3	1	5	5	1
	3	3	5	1	5	1	1
4	3	1	5	0	3	1	1
	3	0	5	0	5	1	1
	3	1	5	0	3	1	0
5	3	1	5	1	5	1	0
	4	1	5	1	5	1	1
	4	0	5	1	5	1	1
6	5	1	1	0	5	1	
	5	2	5	0	5	2	
	3	2	5	1	5	2	

Se expresan los datos obtenidos del análisis estadístico y de los test estadísticos correspondientes al daño histológico de la mucosa en íleon para los grupos con y sin reperusión (tabla 30).

Tabla 30. *Parámetros y diferencias estadísticas del daño histológico de la mucosa en íleon*

Grupos	Media	Mediana	P ₂₅	P ₇₅	Kruskal -Wallis	Prueba de Mann- Whitney
A1	4,06	4	3,67	4,41	0,512	
B1	4,11	4	3,50	4,00		
C1	4,44	4,66	3,67	5,00		
Grupos	Media	DE	IC 95%		Kruskal -Wallis	Prueba de Mann- Whitney
D	0,73	0,46	0,48	0,99		D-A1 <0,001 D-B1 <0,001 D-C1 <0,001
Grupos	Media	Mediana	P ₂₅	P ₇₅	Kruskal -Wallis	Prueba de Mann- Whitney
A2	1,06	0,83	0,67	1,67	0,089	
B2	0,72	1	0,25	1,00		
C2	1,77	1,33	1,00	2,66		
Grupos	Media	DE	IC 95%		Kruskal -Wallis	Prueba de Mann- Whitney
D	0,73	0,46	0,48	0,99		D-A2 0,573 D-B2 0,921 D-C2 0,008

En esta tabla se observa que:

- en el tiempo 1: existen diferencias estadísticamente significativas entre D-A1, D-B1 y D-C1. El valor de las medias es claramente mayor en los grupos a los que se les aplica isquemia (A1, B1 y C1) respecto al grupo control (D). Esto supone que cuando hay isquemia hay mayor daño histológico que cuando no hay isquemia, independientemente del fármaco utilizado durante el periodo de isquemia.

- en el tiempo 2: únicamente existen diferencias estadísticamente significativas entre D-C2. El mayor valor de la media es la del grupo C2. Se puede decir que al realizar isquemia el grupo al que se le ha administrado clopidogrel tiene mayor daño histológico de la mucosa que los otros grupos (A2 y B2). El valor de la media en términos generales es menor en el grupo en el que hay un periodo de reperfusión de 24 horas que en el que no existe reperfusión; lo que explica que tras la reperfusión mejora el daño histológico de la mucosa.

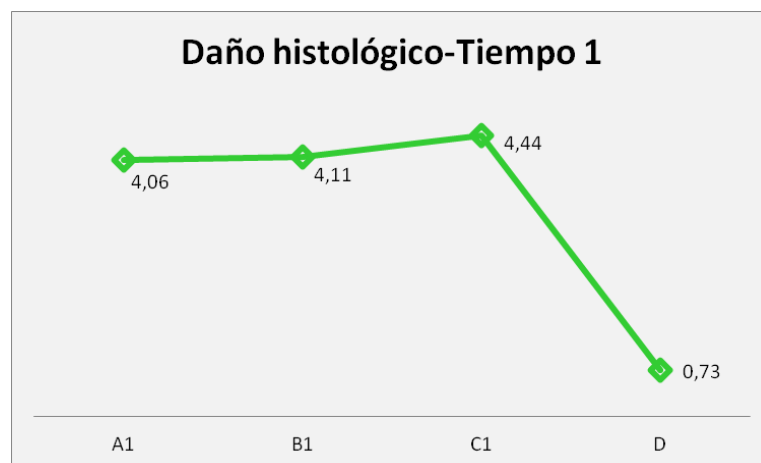


Figura 50. Media del daño histológico de la mucosa en íleon. Tiempo 1

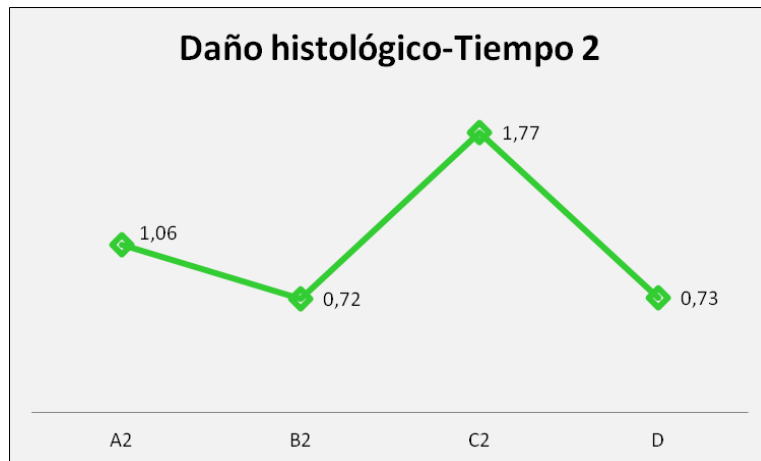


Figura 51. Media del daño histológico de la mucosa en íleon. Tiempo 2

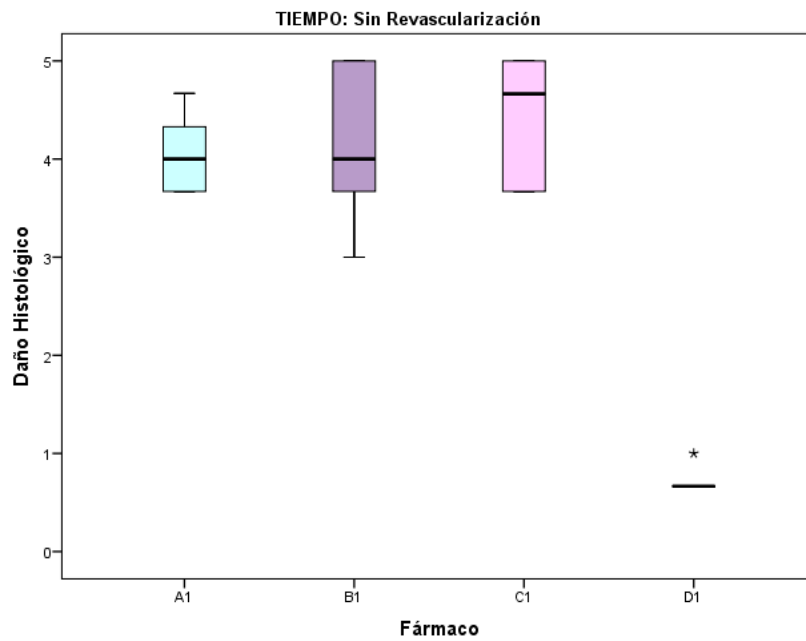


Figura 52. Percentil 25-75 daño histológico de la mucosa en íleon. Tiempo 1

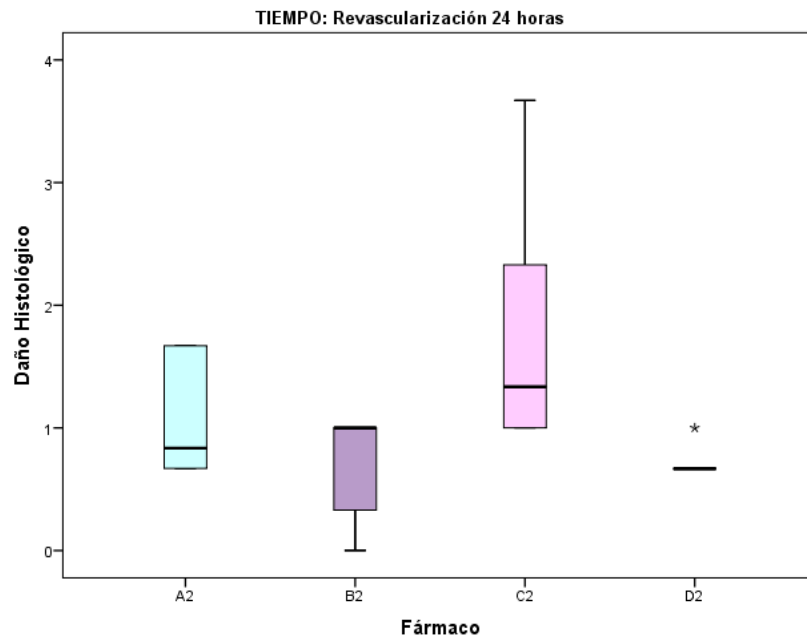


Figura 53. Percentil 25-75 daño histológico de la mucosa en íleon. Tiempo 2

DISCUSIÓN

6. Discusión

6.1 Discusión del modelo experimental

6.1.1 Justificación del modelo isquemia-reperfusión

Nos ha parecido interesante plantear un modelo experimental de tratamiento de la IMA dada la prevalencia y morbi-mortalidad de esta patología.

En 1986, Parks y Granger ⁽⁸⁷⁾ informaron que la reperfusión es más dañina que la isquemia sola. En particular, el daño tisular que es causado por isquemia y reperfusión en el intestino es asociado con alta morbilidad y mortalidad en pacientes quirúrgicos.

Existe una evidencia considerable que indica que la pared de los capilares intestinales es una barrera altamente restrictiva que impide el movimiento de macromoléculas de la sangre a los linfáticos. Sin embargo hay varias condiciones fisiológicas y patológicas y agentes farmacológicos que incrementan la permeabilidad de esta barrera. Una condición experimental que lleva a un aumento dramático en la permeabilidad vascular intestinal es una hora de isquemia regional producida por la oclusión arterial parcial (como en nuestro caso) ⁽¹⁹²⁾.

Morini et al. ⁽¹⁹³⁾, en un estudio del año 2010 han establecido que una isquemia intestinal inferior a los 30 minutos de isquemia en ratas conllevan un daño demasiado limitado, mientras que más de 60 minutos resultará en una necrosis masiva que se asocia con una alta tasa de mortalidad. Esta última observación contrasta con nuestros resultados, así en el grupo de isquemia de 60 minutos no se observa mortalidad; y existe una mortalidad del 50% en el grupo que se realizó 60 minutos de isquemia y reperfusión de 24 horas.

Existe un tiempo máximo de isquemia tolerable (en torno a cuatro-seis horas) a partir del cual el intestino se torna inviable y el animal sufre un

shock irreversible que le causa la muerte no existiendo en este caso un verdadero síndrome de reperfusión ⁽¹⁹⁴⁾.

6.1.2 Justificación del animal de experimentación

El animal empleado para la realización del estudio fue la rata de la raza Wistar. Se utilizó esta especie por su asequible disponibilidad debido a su reducido coste, facilidad de manejo y mantenimiento en cautividad ⁽¹⁹⁵⁾. Por otro lado, el modelo de isquemia-reperfusión en este animal ha sido ampliamente estudiado, es fácilmente reproducible y de resultados estandarizables.

Desde el punto de vista macroscópico, el intestino delgado de la rata se divide en duodeno, yeyuno e íleon. El duodeno es retroperitoneal, al igual que en el hombre, y el yeyuno y el íleon se encuentran móviles dentro de la cavidad abdominal, adheridos a la pared posterior por un mesenterio por el que discurren los vasos intestinales. A nivel microscópico se compone de cuatro capas: serosa, muscular, submucosa y mucosa, al igual que en el hombre ⁽¹³⁶⁾.

El riego sanguíneo intestinal de la rata proviene de las arterias celíaca, mesentérica superior e inferior, estableciéndose entre éstas unas arcadas anastomóticas en el interior del mesenterio similares a las que ocurren en la especie humana.

6.1.3 Justificación de la sustancia a estudiar

Las sustancias utilizadas han sido ácido acetilsalicílico y clopidogrel. Éstas son usadas habitualmente en la práctica clínica. Se han observado sus efectos en el síndrome de isquemia-reperfusión a nivel intestinal.

El AAS es rápidamente absorbido en el tracto gastrointestinal alto y resulta en una inhibición medible de la función de las plaquetas dentro de 60 minutos. La vida media en plasma del AAS es solamente 20 minutos, sin embargo porque las plaquetas no pueden generar nueva COX, su efecto

dura lo que dura la vida de las plaquetas (aproximadamente 10 días). En nuestro caso y teniendo en cuenta la vida media del AAS, se puede entender que la administración intragástrica del AAS permite que se manifieste la acción del AAS durante el tiempo de isquemia (60 minutos).

Haglind et al. ⁽¹⁹⁶⁾ observaron un incremento de diez veces de las plaquetas en el intestino isquémico. Esto podría implicar que la agregación plaquetaria en el intestino delgado isquémico o bien era el mecanismo que conduce al daño fisiopatológico de la mucosa o bien es un fenómeno secundario evocado por las lesiones de la mucosa.

En un estudio posterior ⁽¹⁹⁷⁾ demostraron que el daño de la mucosa después de la isquemia intestinal es independiente del número de plaquetas circulantes en sangre periférica. Consecuentemente, la acumulación de plaquetas en el intestino delgado después de la isquemia probablemente no es un factor importante en la evolución de la lesión mucosa.

Se ha visto que el AAS claramente disminuye la mortalidad y el reinfarto cuando se da como terapia a corto plazo para el infarto agudo de miocardio, cuando se da a pacientes con angina inestable y cuando se da a largo plazo en terapia preventiva secundaria en un amplio rango de pacientes con enfermedad cardiovascular establecida ⁽¹⁶³⁾. Nuestro estudio pretende valorar los posibles efectos beneficiosos de la AAS en este modelo experimental.

La dosis de esta sustancia debería ser siempre la dosis más baja que se conoce que es efectiva porque dosis mayores resultan en mayores tasas de complicaciones. Este dato se confirma en un reciente estudio ⁽¹⁹⁸⁾ realizado en pacientes tratados con intervención percutánea coronaria por infarto de miocardio, en el que se observa que altas dosis de mantenimiento de AAS se asocia con tasas similares de eventos cardiovasculares mayores y mayor riesgo de hemorragia menor que los que toman bajas dosis del fármaco.

Los mismos objetivos se han pretendido comprobar en los grupos donde se ha utilizado como fármaco el clopidogrel, dada su acción de interferir con la agregación plaquetaria por inhibición selectiva e irreversible del enlace de ADP con su receptor en las plaquetas.

Existe evidencia significativa que el pretratamiento con clopidogrel reduce significativamente el tamaño del daño isquémico cerebral inducido por oclusión trombótica de la arteria cerebral media en ratas ⁽¹⁷⁷⁾. Nuestros resultados permitirían apoyar dicho dato dado que el tratamiento con clopidogrel atenúa la lesión isquémica intestinal, fundamentalmente en el grupo de 60 minutos de isquemia y reperfusión de 24 horas, con una media de daño histológico menor incluso que el grupo control (0.67 vs 0.73).

Así mismo hay datos que las tienopiridinas son significativamente más efectivas que la AAS en la prevención de eventos vasculares en pacientes de alto riesgo, aunque los datos no son concluyentes desde el punto de vista estadístico. En este grupo de pacientes, las tienopiridinas (ticlopidina y clopidogrel) reducen la probabilidad de accidente cerebrovascular, infarto de miocardio o muerte vascular en cerca del 9% en comparación con el ácido acetilsalicílico ⁽¹⁸⁴⁾. Comparando estos resultados con los obtenidos en el presente estudio, se observa una similitud. El tratamiento con clopidogrel mejora diversos parámetros morfométricos respecto al AAS: altura de la vellosidad tanto en yeyuno como en íleon y menor daño histológico en las muestras de yeyuno. No obstante, hay que decir que en nuestro estudio se realizó tratamiento y no prevención.

En la literatura se pone de manifiesto que las tienopiridinas no deben reemplazar al ácido acetilsalicílico como tratamiento antiplaquetario de primera elección para todos aquellos pacientes con alto riesgo vascular. Aún así, el clopidogrel parece tener un papel para aquellos pacientes con intolerancia o alergia al ácido acetilsalicílico, siempre y cuando se acepte la advertencia de que no contamos con evidencia directa de la efectividad relativa de las tienopiridinas comparadas con el ácido acetilsalicílico en este

tipo de pacientes, ya que éstos fueron excluidos de los ensayos aleatorios ⁽¹⁸⁴⁾. Haciendo una comparativa con nuestros resultados, se objetiva que el tratamiento con AAS aporta mayor beneficio a nivel morfométrico que el clopidogrel para el grosor total de la pared tanto a nivel de yeyuno como de íleon y supone un menor daño histológico en las muestras de íleon. Esto nos hace pensar que el AAS tiene un papel efectivo en el tratamiento en la IRI.

Los experimentos con animales sugieren claramente que el clopidogrel impide la reoclusión trombótica de las arterias coronarias, femorales y carótidas, después de la lesión endotelial en condiciones en las que el ácido acetilsalicílico es ineficaz. Además, el clopidogrel impide la reoclusión de la arteria coronaria con mayor eficacia que el ácido acetilsalicílico ⁽¹⁹⁹⁾.

En pacientes con enfermedad arterial coronaria sintomática, el tratamiento con clopidogrel mejora la función endotelial sistémica y la biodisponibilidad del óxido nítrico, el estrés oxidativo reducido y la disminución de la respuesta inflamatoria. Estos hallazgos apoyan el principio que además de su efecto antiagregante, bloqueando el receptor de ADP plaquetario, el clopidogrel puede disminuir la activación inflamatoria sistémica y la activación de la inflamación endotelial ⁽²⁰⁰⁾.

No obstante, otros estudios ⁽²⁰¹⁾ sugieren que los posibles efectos beneficiosos del clopidogrel no se deben a efectos directos de la pared vascular y apoyan el concepto de que las plaquetas activadas contribuyen a la disfunción endotelial, posiblemente a través de la alteración de la biodisponibilidad del óxido nítrico y la síntesis de prostanoïdes.

El clopidogrel una vez absorbido, es transformado por el hígado en su molécula activa dentro de las dos horas siguientes de su administración ⁽²⁰²⁾. No obstante, y a pesar de la farmacocinética del producto, el mejor resultado (comparado con los otros grupos de tratamiento) en los animales tratados con esta molécula se obtiene, a nivel de yeyuno, en los grupos de isquemia (60 minutos) y sin tener en cuenta el tiempo de reperfusión para dos de los

parámetros estudiados: altura de la vellosidad y grosor total de la pared. Sin embargo dichos hallazgos no se confirman en el íleon.

De nuestros resultados se puede concluir que el tratamiento con clopidogrel presenta una media mayor tanto para la altura de la vellosidad como para el grosor total de la pared y supone un menor daño histológico a nivel de yeyuno, todo ello comparado con la no aplicación de fármaco alguno y con la administración de AAS. En el caso del tratamiento con AAS se observan mejores resultados en la conservación del grosor total de la pared y menor daño histológico en íleon en el grupo que se realiza reperusión de 24 horas cuando se compara con no administrar fármaco y con tratamiento con clopidogrel.

6.1.4 Justificación de la técnica microscópica

Típicamente, la lesión isquémica lleva a la progresión del daño desde la punta de la vellosidad después de periodos más cortos o medios de isquemia, extendiéndose a las criptas sólo después de períodos mucho más largos de isquemia. Es importante disponer de un sistema de clasificación ideal que sea fácil de aprender y usar y que tenga una baja variabilidad interobservador. Se puede concluir que el sistema Park/Chiu es el más próximo para reunir estos criterios. Este sistema de clasificación combina la progresión de la lesión morfológica de leve a grave. La clasificación incluye tanto la arquitectura y daño tisular más detallado y están bien definidos, lo que conduce a una baja variabilidad interobservador. El sistema Parks fue igualmente fiable, sin embargo no incluye lesión por debajo de la mucosa y su estructura, lo cual separa el daño de la vellosidad y cripta, haciendo esto más difícil de manejar e interpretar ^(203,204).

En 1970, Chiu informó de una escala de clasificación del daño producida por isquemia en la mucosa intestinal en perros basada en la tinción con hematoxilina y eosina. Se demostró de manera convincente que el sistema de clasificación está directamente relacionado con el nivel de flujo sanguíneo

intestinal, es decir cuanto menor sea el flujo, mayor es el grado de clasificación. Además, para un determinado nivel de flujo sanguíneo, el daño fue dependiente del tiempo, es decir, cuanto mayor sea la isquemia más pronunciado será el daño ^(204,205,206).

Sin embargo, otros autores consideran que no es posible establecer una correlación estricta entre el grado de lesión y la duración de la isquemia, ya que en unas ocasiones aparecen grandes lesiones con poco tiempo de isquemia y, en otras, lesiones leves con un tiempo de isquemia elevado ⁽¹²⁰⁾.

El sistema de clasificación de Chiu también ha sido adaptado para el hombre (Haglund et al. 1975) y la rata (Haglund et al. 1980) ⁽²⁰⁴⁾.

6.2 Discusión de los resultados

En nuestro estudio hemos optado por incluir un grupo control con objeto de excluir los resultados falsamente positivos. A los animales pertenecientes a este grupo solo se les realizó laparotomía sin añadir ningún otro procedimiento. El empleo de este placebo quirúrgico es habitual en todos los estudios experimentales ⁽²⁰⁷⁾.

En todas las especies, incluyendo la humana, una reducción en el flujo sanguíneo del intestino delgado, incluso para un tiempo relativamente corto, resulta en la formación de lesiones características de la mucosa ⁽²⁰⁸⁻²¹⁰⁾. La patogenia de dichas lesiones involucran a la hipoxia tisular de oxígeno (mecanismo de intercambio contracorriente) y a la producción de radicales libres de oxígeno ⁽²¹⁰⁻²¹⁴⁾.

No están muy estudiadas las repercusiones de la isquemia sobre la función de la mucosa, pero los datos existentes hacen hincapié en la buena correlación entre las características estructurales y funcionales ⁽⁶¹⁾.

La recuperación de la mucosa intestinal después de un trauma isquémico es extremadamente rápida. En las ratas, después de la oclusión de la arteria mesentérica superior durante una hora, la recuperación de la estructura

normal se produce dentro de 48 a 72 horas. Cuando el periodo isquémico se prolonga a dos horas, la estructura tanto de la vellosidad como del epitelio que lo recubre requiere siete días para volver a la normalidad ^(61,120). En otro estudio ⁽¹³³⁾ se demostró que el epitelio del íleon se restituye en gran medida en una hora (47.6%) y más aún en 3 horas (60%), en 6 horas (77.8%) y completado en 12 horas. Está bien establecido que la isquemia-reperfusión provoca una serie de eventos que produce lesiones seguido por una completa regeneración de la mucosa dentro de unos pocos días sin consecuencias a largo plazo ⁽¹⁹³⁾.

El momento en el que se produce el pico máximo de la altura de las vellosidades y de la profundidad de las criptas durante la regeneración depende del tiempo de isquemia sufrido: a menor tiempo de isquemia antes se produce el pico máximo en los parámetros medidos. La isquemia mantenida retrasa las manifestaciones propias del proceso regenerativo de la mucosa ⁽²¹⁵⁾.

Se puede considerar que las lesiones se producen durante el periodo isquémico se hacen más evidentes en el momento de la reperfusión debido al aumento repentino en el flujo sanguíneo y al incremento resultante en la presión vascular local. Sin embargo, Parks et al. ⁽²¹⁶⁾ consideran que es el aumento de presión parcial de oxígeno y no el aumento de la presión microvascular el responsable de la lesión en la fase de reperfusión. A este respecto, podemos añadir que al observar los datos obtenidos en nuestro estudio, el daño histológico en los grupos en los que sólo se realiza isquemia es mayor que en los grupos en los que se practica isquemia y reperfusión; lo que implica mayor daño de la mucosa intestinal en los grupos de isquemia sin reperfusión y éste mejora tras 24 horas de reperfusión.

Granger et al. ⁽⁵⁹⁾ indican que la mayoría de las lesiones mucosas producidas durante la isquemia ocurren en el período de reperfusión al medir el grosor total de la mucosa, la altura de la vellosidad y la profundidad de la cripta en un segmento de intestino sometido a 3 horas de isquemia y los

resultados mejoran al administrar sustancias como alopurinol y superóxido dismutasa. Estos datos sin embargo, no se relacionan claramente con los observados en nuestro trabajo, en donde las lesiones observadas en yeyuno –para la altura de la vellosidad- y tras una hora de isquemia y 24 horas de reperfusión, mejoran durante la reperfusión y más aún tras administrar fármacos, tales como ácido acetilsalicílico y clopidogrel. Dichas observaciones no son tan evidentes en las muestras de íleon, en este caso las alteraciones se agravan durante la reperfusión, obteniendo una menor altura de la vellosidad en el grupo de reperfusión comparado con el grupo al que se le realiza solamente isquemia.

6.2.1 Altura de la vellosidad

YEYUNO: En nuestro estudio, de entre todos los grupos a los que se les practica isquemia, son los grupos tratados con clopidogrel aquellos que presentan mayor altura de la vellosidad tanto para los grupos en los que no se realiza reperfusión, como para los grupos en los que la duración de la misma son 24 horas. Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre C2-A2 y C2-B2.

En la bibliografía revisada ⁽²⁰⁸⁾, se observa una reducción en la longitud de la vellosidad intestinal a nivel de yeyuno, que aumenta según aumenta el tiempo de isquemia. Esta reducción en la longitud de la vellosidad fue estadísticamente significativa en relación al grupo control. Este dato se observa igualmente en nuestro trabajo al comparar el grupo de isquemia (60 minutos), con o sin reperfusión, con el grupo control ($p < 0,001$).

ÍLEON: La altura de la vellosidad es mayor en todos los grupos a los que se les realizó isquemia, independientemente del tiempo de reperfusión, en comparación con el grupo control; excepto en el grupo B2. Sin embargo solo hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos sin reperfusión y el grupo control (D-A1, D-B1, D-C1).

Observando los datos obtenidos, la altura de la vellosidad es mayor en los grupos que solo recibieron isquemia (60 minutos) comparada con los grupos de isquemia (60 minutos) y reperfusión (24 horas). La bibliografía revisada ^(163,205) es compatible con estos hallazgos, encontrándose que las lesiones histológicas secundarias a la isquemia se agravan durante la reperfusión.

Hay evidencia experimental que tras un período de isquemia entre 15 minutos y 120 minutos y un periodo de reperfusión máximo de 24 horas, en íleon se observa un acortamiento de vellosidades respecto al grupo control ^(120,217); contrariamente, nuestras observaciones muestran que la altura media de las vellosidades en íleon aumentó tanto en el grupo de isquemia sin reperfusión como en el grupo de isquemia con reperfusión comparando con el grupo control, a excepción del grupo tratado con AAS y reperfusión.

El restablecimiento del flujo sanguíneo al intestino delgado resulta en un acortamiento significativo de las vellosidades ⁽⁷⁰⁾. En nuestro estudio se observa que la altura de las vellosidades disminuye en el grupo de reperfusión en el íleon en todos los grupos de tratamiento respecto al grupo que sólo se le practica isquemia; aunque esta disminución de la altura de la vellosidad en el grupo de reperfusión no es menor que la del grupo control, excepto para el grupo B2.

Resumiendo podemos decir que, si se comparan los resultados de la altura de la vellosidad en ambos grupos de tratamiento: sin y con reperfusión, dicho parámetro morfométrico es mayor en todos los grupos respecto al grupo control, excepto en el grupo B2 (isquemia de 60 minutos, tratamiento con AAS y reperfusión de 24 horas). Ello indica de forma global que el tratamiento farmacológico con los fármacos estudiados conlleva una mayor conservación de la estructura de la vellosidad y por consiguiente menor lesión intestinal.

Las lesiones ocurrieron en su mayor parte en el íleon en el borde antimesentérico ⁽²¹⁸⁾. Estos hallazgos son consecuentes con esos de Picazo

et al. (2008) ⁽²¹⁹⁾ quienes informaron que el íleon fue la región del intestino delgado más susceptible del intestino delgado en paciente con isquemia mesentérica. Nuestro estudio no permite aportar un resultado concluyente a este respecto por la disparidad de los datos observados en el estudio morfométrico.

6.2.2 Anchura de la vellosidad

YEYUNO: exceptuando el grupo control, los resultados obtenidos muestran mayor anchura para el grupo al que se le practicó isquemia y no se le aplicó fármaco alguno en ambos grupos de reperusión.

En un estudio realizado por Terezinha et al. en el año 2013 ⁽²⁰⁶⁾, encuentran que hay diferencias estadísticamente significativas en la anchura de las vellosidades respecto al grupo control. Este dato no se objetivó en nuestro caso en el que la anchura es menor en todos los grupos de isquemia y de reperusión, respecto al grupo control. A pesar de ellos se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos a los que se les aplicó fármaco (AAS ó clopidogrel) y el grupo control (D-B1, D-C1, D-B2, D-C2).

ÍLEON: Se observa una disminución de la anchura de todos los grupos y para ambos tiempo de estudio –tiempo 1 y 2- respecto al grupo control excepto en el grupo C2, en donde es mayor.

Este hallazgo también contrasta con el dato que pone de manifiesto que la anchura media de la vellosidad disminuye tras isquemia de 60 minutos y aumento tras reperusión de 24 horas; ambos datos comparados con el grupo control ⁽²¹⁷⁾.

6.2.3 Grosor total de la pared

YEYUNO: No se observan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos tratados, independientemente del tiempo.

Se puede destacar, que en el tiempo 1 es el grupo B1 el que presenta unos resultados más parecidos al grupo control; mientras que el tiempo 2 es el grupo C2.

ÍLEON: No se observan diferencias estadísticamente significativas entre ninguno de los grupos tratados para ambos tiempos. De los fármacos utilizados en el estudio, es el grupo tratado con ácido acetilsalicílico el que mantiene mayor grosor en el grupo que se realiza reperfusión intestinal.

Por otro lado, la media del grosor total de la pared es mayor en el grupo control que en todos los grupos de isquemia y reperfusión, lo que explica que tanto la isquemia como la reperfusión suponen un daño para la mucosa intestinal que no mejora tras administrar fármacos desde el punto de vista del grosor total de la pared.

En un estudio realizado por Boros et al. ⁽¹²⁷⁾ se confirma que el grosor de la pared disminuye con el tiempo de isquemia respecto al grupo control. Observando una disminución mayor tras 30 minutos de reperfusión. Este dato se puede extrapolar a nuestros resultados; así en el grupo que se realiza simplemente isquemia y sin aplicación de ningún fármaco el grosor total de la pared disminuyó respecto al grupo control (562,25 y 673 micras respectivamente). Este parámetro disminuyó más aún, cuando al grupo de similares características se le reperfunde durante de 24 horas (526,83 micras). Comparando nuestros datos con los de la literatura, en donde las lesiones seguidas de la reperfusión agravan las halladas después de la isquemia ⁽⁵⁹⁾; de forma global, el grosor total de la pared es mayor en los grupos que hay reperfusión que en los que no la hay. Este dato es claro y permanente en el grupo tratado con clopidogrel, tanto en yeyuno como en íleon. De esta manera, para el grosor total de la pared, la reperfusión supone un efecto ventajoso para la lesión de la mucosa que ha sufrido isquemia-reperfusión.

6.2.4 Profundidad de las criptas

YEUENO: No se observan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con o sin reperfusión. Del grupo que sólo recibe isquemia, destaca que la menor profundidad de las criptas es la del grupo tratado con clopidogrel y la mayor profundidad de las criptas es la del grupo tratado con ácido acetilsalicílico. Este dato difiere del observado tras la reperfusión, en el que la mayor profundidad corresponde al grupo que no se le aplica tratamiento, seguido del grupo tratado con clopidogrel. Se puede así establecer que la reperfusión (a diferencia de lo comentado previamente ^(59,205)) supone una mejoría de los resultados de la profundidad respecto a la isquemia por sí misma.

ÍLEON: En nuestro estudio no hay diferencias estadísticamente significativas haciendo una comparativa entre los grupos a los que se les practica la isquemia, independiente del tiempo de reperfusión. No obstante, llama la atención, que en ambos grupos de reperfusión, los fármacos empleados, tanto AAS como el clopidogrel, no suponen una mejoría en la medición de este parámetro comparado con el grupo control.

Estos datos se contraponen con los publicados por Granger et al. ⁽⁵⁹⁾ que encuentra que las lesiones debidas a la reperfusión son más manifiestas que las debidas a la isquemia y que estos datos mejoran al administrar sustancias como alopurinol y superóxido dismutasa

Por consiguiente, en nuestro estudio los parámetros morfométricos no empeoran en el grupo de reperfusión respecto al grupo de isquemia ni en yeyuno ni en íleon. La administración terapéutica de las moléculas estudiadas solo permite observar una recuperación de la profundidad de las criptas con clopidogrel en yeyuno e íleon y con AAS sólo en íleon. Aunque en ningún caso los datos son mayores que el grupo control.

Haj et al. ⁽²²⁰⁾ en un estudio experimental encuentra que la administración de ozono incrementa la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas

en yeyuno y en íleon comparada con el grupo al que se le practica isquemia/reperfusión sin aplicar ningún fármaco o sustancia.

6.2.5 Daño histológico

YEUENO: Se observan diferencias estadísticamente significativas, en el grupo que hay reperfusión, entre el grupo tratado con ácido acetilsalicílico y el tratado con clopidogrel; este hecho confiere al grupo tratado con clopidogrel un menor daño lesional de la mucosa que el grupo tratado con AAS. Esto también se observa en el grupo que no hay reperfusión (menor daño histológico con clopidogrel que con AAS), sin haber diferencias estadísticamente significativas en este grupo.

ÍLEON: En este segmento del intestino, el menor daño histológico de la mucosa le corresponde al grupo tratado con ácido acetilsalicílico para un tiempo de reperfusión de 24 horas, aunque no se observan diferencias estadísticamente significativas ($p= 0.089$).

Se ha observado que el grado de lesión intestinal (según la clasificación de Chiu) aumenta según aumenta el tiempo de isquemia. De tal forma que para un tiempo de isquemia de 60 minutos y sin reperfusión en una muestra de íleon, la media del grado de lesión fue de 3,4 ⁽¹²⁷⁾. Este dato se asemeja al obtenido en nuestro estudio en el íleon, en donde para un tiempo de isquemia de 60 minutos y sin reperfusión en el grupo al que no se le aplicó fármaco alguno, la media del daño histológico fue de 4,06. Sin embargo para el mismo tiempo de isquemia y 24 horas de reperfusión el daño histológico fue menor (media de daño histológico 1,06). Lo que sugiere que la lesión intestinal comienza a mejorar durante la reperfusión.

También se ha demostrado que inmediatamente después de un período de isquemia de 20 minutos de duración, hubo un aumento del grado de lesión tisular relacionado con el incremento de la duración de la isquemia. La media del daño histológico para el grupo de isquemia de 60 minutos sin reperfusión

fue aproximadamente 3,5 ⁽¹²¹⁾; en este punto se puede percibir una similitud con nuestros datos.

Haglind et al. ⁽¹⁹⁷⁾ observaron que las lesiones de grado 4-5 se encontraron ya antes de la reperfusión, lo que indica que la hipoxia como tal es un trauma suficiente para provocar daño tisular. Este dato se confirma en los resultados obtenidos, tanto en yeyuno como en íleon, que en los grupos que solo se realiza isquemia, el grado de lesión es mayor (grado de daño histológico mayor de 2-3 en yeyuno y mayor de 4 en íleon) que en los grupos en los que tras la isquemia, hay un periodo de reperfusión de 24 horas (grado de daño de lesión menor de 2 tanto en yeyuno como en íleon).

6.3 Futuros estudios

En la bibliografía revisada se observan que existen diversos estudios que cuantifican la lesión tisular en el intestino en situaciones de bajo flujo o en situaciones de isquemia-reperfusión. En ellos se informa de forma detallada de la destrucción de la pared intestinal y de la apariencia general de la mucosa, sin hacer referencia a la capacidad regenerativa del epitelio ni tampoco se destacan cambios en los distintos tipos celulares. Por ello, sería interesante realizar estudios ulteriores en que se evaluara estos dos aspectos.

Otra reseña podría ser la necesidad de estudios subsiguientes comparando tiempos de revascularización dispares, como por ejemplo a las 48 y a las 72 horas; que complementaran el expuesto previamente; de tal forma que se valorará la recuperación de la estructura intestinal hasta la normalidad.

Por otro lado sería interesante conocer la acción de la administración conjunta de AAS y clopidogrel en un modelo de similares características al presentado previamente. Sin embargo, se ha observado que el tratamiento a largo plazo con AAS puede disminuir la absorción intestinal de clopidogrel administrado por vía oral a través de la regulación de MDR1 ⁽²²¹⁾; factor que habría que tener en cuenta para estudios posteriores.

Desde otro punto de vista; sería interesante la utilización y combinación con fármacos nuevos, como el CS-747 (Prasugrel). Es un miembro de la familia de las tienopiridinas que inhibe la agregación plaquetaria de forma efectiva administrado por vía oral. El atractivo perfil preclínico de CS-747 demuestra ser más potente, actuar más rápido y tener una mayor duración de acción que la ticlopidina y el clopidogrel. Tiene actividad antagonista del receptor P2Y₁₂⁽²²²⁾.

En la literatura, hay varias sustancias utilizadas a nivel experimental para intentar mejorar la lesión intestinal secundaria a la isquemia/reperfusión. Entre estas sustancias se incluyen: el factor de crecimiento epidérmico unido a heparina, el cual administrado intraluminalmente reduce tanto la cantidad y la severidad de la lesión en el intestino delgado por isquemia-reperfusión, reduce la mortalidad asociada con isquemia intestinal y puede mejorar la recuperación intestinal⁽²²³⁾. Este aspecto sería útil para los subsiguientes estudios de investigación y así poder llegar a mejorar el pronóstico y la tasa de morbi-mortalidad de la lesión intestinal por isquemia-reperfusión.

CONCLUSIONES

7. Conclusiones

1. Tras un período de isquemia de 60 minutos e independientemente del tiempo de reperfusión se producen daños histológicos a nivel de la mucosa intestinal confirmados en el estudio morfométrico.
2. La administración de AAS tiene efectos positivos en la conservación del grosor total de la pared tanto a nivel de yeyuno como de íleon, más acusados a nivel del íleon.
3. El empleo de AAS atenúa la lesión de la mucosa intestinal a nivel del íleon en el modelo de isquemia-reperfusión.
4. La administración de clopidogrel permite conservar mejor la altura de la vellosidad tanto en las muestras de yeyuno como de íleon tanto en un modelo de isquemia como en un modelo de isquemia-reperfusión.
5. La administración de clopidogrel conlleva menor daño histológico en yeyuno tanto para los grupos a los que no se les realiza reperfusión como para aquellos con reperfusión de 24 horas.
6. Desde el punto de vista morfométrico, las lesiones producidas por una isquemia de 60 minutos se atenúan tras 24 horas de reperfusión, tanto espontáneamente como con la administración de las moléculas.
7. Los parámetros morfométricos que muestran un menor beneficio de la administración de las moléculas estudiadas son la anchura de la vellosidad y la profundidad de las criptas.
8. En nuestro modelo experimental la isquemia-reperfusión se asocia a una mayor mortalidad que la isquemia simple.
9. El clopidogrel disminuye de forma evidente la mortalidad en el periodo de isquemia-reperfusión.

BIBLIOGRAFÍA

8. Bibliografía

1. Ortiz J, García-Alonso I, Portugal V, Méndez J. Influencia del peso corporal y del período de isquemia mesentérica aguda en la mortalidad de ratas sometidas a revascularización intestinal. *Rev Esp Enf Digest.* 1990; 77: 263-267.
2. Cokkinis AJ. Observations on the mesenteric circulation. *J Anat.* 1930; 64:200-205.
3. Kim MY, Suh CH, Kim ST, Lee JH, Kong K, Lim TH, et al. Magnetic resonance imaging of bowel ischemia induced by ligation of superior mesenteric artery and vein in a cat model. *J Comput Assist Tomogr.* 2004; 28:187-92.
4. Kozuch PL, Brandt LJ. Review article: diagnosis and management of mesenteric ischaemia with an emphasis on pharmacotherapy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2005; 21:201-15.
5. Aksu C, Demirpolat G, Oran I, Demirpolat G, Parildar M, Memis A. Stent implantation in chronic mesenteric ischemia. *Acta Radiol.* 2009; 50:610-6
6. Loffroy R, Steinmetz E, Guiu B, Molin V, Kretz B, Gagnaire A, et al. Role for endovascular therapy in chronic mesenteric ischemia. *Can J Gastroenterol.* 2009; 23:365-73.
7. Penugonda N, Gardi D, Schreiber T. Percutaneous intervention of superior mesenteric artery stenosis in elderly patients. *Clin Cardiol.* 2009; 32:232-5.
8. Mitchell EL, Chang EY, Landry GJ, Liem TK, Keller FS, Moneta GL. Duplex criteria for native superior mesenteric artery stenosis overestimate stenosis in stented superior mesenteric arteries. *J Vasc Surg.* 2009; 50:335-40.

9. Sivamurthy N, Rhodes JM, Lee D. Endovascular versus open mesenteric revascularization: immediate benefits do not equate with short-term functional outcomes. *J Am Coll Surg.* 2006; 202:859-67.
10. Bertrán X, Muchart J, Planas R, Real MI, Ribera JM, Cabré E, et al. Occlusion of the superior mesenteric artery in a patient with polycythemia vera: resolution with percutaneous transluminal angioplasty. *Ann Hematol.* 1996; 72:89-91.
11. Schoots IG, Levi MM, Reekers JA, Lameris JS, van Gulik TM. Thrombolytic therapy for acute superior mesenteric artery occlusion. *J Vasc Interv Radiol.* 2005; 16:317-29.
12. Serracant A, Luna A, Hidalgo JM, Cánovas G, Fortuño JR, Falcó J, et al. Acute mesenteric ischemia: utility of endovascular techniques. *Cir Esp.* 2015; 07.001
13. Montoro MA, García J, Fabregat G. Isquemia intestinal. En: Jarpyo Editores. *Gastroenterología y Hepatología. Problemas comunes en la práctica clínica.* 2ª ed. Madrid: 2012; p. 389-400.
14. Sadler TW. *Langman's medical embryology.* 12ª ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Williams; 2012. p. 208-28.
15. Rouvière H, Delmas A. *Anatomía humana. Descriptiva, topográfica y funcional.* 11ª ed. Barcelona: Masson; 2005. p. 181-407.
16. Tank PW, Gest TR. *Atlas of anatomy.* 1st ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2009. p. 225-53.
17. Kornblith PL, Boley SJ, Whitehouse BS. Anatomy of the splanchnic circulation. *Surg Clin North Am.* Philadelphia: Interamericana; 1992;72:1-28.
18. Chiu CJ, McArdle AH, Brown R, Scott HJ, Gurd FN. Intestinal mucosa lesion in low-flow states: A morphological, hemodynamic and metabolic reappraisal. *Arch Surg.* 1970;101:478-83.

19. Patel A, Kaleya RN, Sammartano RJ. Pathophysiology of mesenteric ischemia. En: Boley SJ, Brandt LJ, eds. Surg Clin North Am. Philadelphia: Interamericana; 1992;72: 31.
20. Ross M, Pawlina W. Histology. A text and atlas. With correlated cell and molecular biology. 6ª ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2011. p. 616-620.
21. Mills SE. Histology for pathologists. 3ª ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2007. p. 604-27.
22. Young B, Lowe S, Stevens A, Heath JW. Wheather's functional histology. A text and colour atlas. 5ª ed. Philadelphia: Elsevier; 2007. p. 263-87.
23. Fawcett DW. A textbook of histology. 12ª ed. Madrid. Interamericana McGraw-Hill, 1995; p. 685-86.
24. Lowe JS, Anderson PG. Stevens & Lowe's Human Histology. 4ª ed. Barcelona. Elsevier Mosby. 2015; p. 186-224.
25. Brüel A, Christensen EI, Trandum-Jensen J, Qvortrup K, Geneser F. Genesers Histology. 4ª ed. Madrid. Editorial Médica Panamericana. 2012. p. 490.
26. Parrilla P, García-Vadecasas JC, Targarona EM. Abdomen agudo. En Farreras P, Rozman C, eds. Medicina Interna. 14º ed. Madrid: Harcourt. 2000. p. 191-204.
27. Jiménez J, Fernández A. Isquemia mesentérica aguda y crónica. En: Parrilla P, Landa JI, eds. Cirugía AEC. 2ª ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana. 2010. p. 1063-76.
28. Sanz M, Turégano F. Isquemia mesentérica aguda. En: Guirao X, Arias J, eds. Guía clínica de infecciones quirúrgicas de la AEC. Madrid: Arán Ediciones. 2006. p. 249-258.

-
29. Guyton AC, Hall JE. Principios generales de la función gastrointestinal: motilidad, control nervioso y circulación sanguínea. Tratado de fisiología médica. 9ª ed. Madrid: McGraw-Hill-Interamericana. 1996. p. 859-69.
30. Narváez-Sánchez R, Chuaire L, Sánchez MC, Bonilla J. Circulación intestinal: su organización, control y papel en el paciente crítico. *Colomb Med*. 2004; 35: 231-44.
31. Patel A, Kaleya RN, Sammartano RJ. Pathophysiology of mesenteric ischemia. En: Boley SJ, Brandt LJ, eds. *Surg Clin North Am*. Philadelphia: Interamericana; 1992;72: 29-38.
32. Guyton AC, Hall JE. Control local del flujo sanguíneo por los tejidos y regulación humoral. Tratado de fisiología médica. 9ª ed. Madrid: McGraw-Hill-Interamericana. 1996. p. 215-25.
33. Schoots IG, Koffeman GI, Legemate DA, Levi M, van Gulik TM. Systematic review of survival after acute mesenteric ischaemia according to disease aetiology. *Br J Surg*. 2004;91:17-27.
34. San Norberto EM, Brizuela JA, Mengíbar L, Salvador R, Revilla A, Martín-Pedrosa M, et al. Isquemia mesentérica. Revisión y puesta al día. *Rev Esp Inv Quir*. 2008;2:81-85.
35. Kong SE, Blennerhassett LR, Heel KA, McCauley RD, Hall JC. Ischaemia-reperfusion injury to the intestine. *Aust NZ J Surg*. 1998;68:554-61.
36. Hinnebusch BF, Ma Q, Henderson JW, Siddique A, Archer SY, Hodin RA. Enterocyte response to ischemia is dependent on differentiation state. *J Gastrointest Surg*. 2002;6:403-9.
37. Kuenzler KA, Pearson PY, Schwartz MZ. Interleukin-11 enhances intestinal absorptive function after ischemia-reperfusion injury. *J Pediatr Surg*. 2002;37:457-59.

-
38. Scolapio JS, Fleming CR. Short bowel syndrome. *Gastroenterol Clin North Am.* 1998;27:467-79.
39. Aksöyek S, Cinel I, Avlan D, Cinel L, Öztürk C, Gurbüz P, et al. Intestinal ischemic preconditioning protects the intestine and reduces bacterial translocation. *Shock.* 2002;18:476-80.
40. Berg RD. Bacterial translocation from the gastrointestinal tract. *Adv Exp Med Biol.* 1999;473:11-30.
41. Rothenbach P, Turnage RH, Iglesias J, Riva A, Bartula L, Myers SI. Downstream effects of splachnic ischemia-reperfusion injury on renal function and eicosanoid release. *J Appl Physiol.* 1997;83:530-6.
42. Marshall JC. The gut as a potential trigger of exercise-induced inflammatory responses. *Can J Physiol Pharmacol.* 1998;76:479-84.
43. Mainous MR, Ertel W, Chaudry IH, Deitch EA. The gut: a cytokine-generating organ in systemic inflammation? *Shock.* 1995;4:193-9.
44. Lane JS, Todd KE, Lewis MP, Gloor B, Ashley SW, Reber HA, et al. Interleukin-10 reduces the systemic inflammatory response in a murine model of intestinal ischemia/reperfusion. *Surgery.* 1997;122:288-94.
45. Hernandez LA, Grisham MB, Twohig B, Arfors KE, Harlan JM, Granger DN. Role of neutrophils in ischemia-reperfusion-induced microvascular injury. *Am J Physiol.* 1987;253:H699-703.
46. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology.* 2001;94:1133-8.
47. Granger DN, Korthuis RJ. Physiologic mechanisms of postischemic tissue injury. *Annu Rev Physiol.* 1995;57:311-32.

-
48. Nalini S, Matha MM, Balasubramanian KA. Oxygen free radical induced damage during intestinal ischemia/reperfusion in normal and xanthine oxidase deficient rats. *Mol Cell Biochem.* 1993;124:59-66.
49. Carden DL, Smith JK, Korthuis RJ. Neutrophil-mediated microvascular dysfunction in postischemic canine skeletal muscle. Role of granulocyte adherence. *Circ Res.* 1990;66:1436-44.
50. Bagge U, Amundson B, Lauritzen C. White blood cell deformability and plugging of skeletal muscle capillaries in hemorrhagic shock. *Acta Physiol Scand.* 1980;180:159-63.
51. Martin GR, Wallace JL. Gastrointestinal inflammation: a central component of mucosal defense and repair. *Exp Biol Med.* 2006;231:130-7.
52. Wu B, Iwakiri R, Tsunada S, Utsumi H, Kojima M, Fujise T, et al. iNOS enhances rat intestinal apoptosis after ischemia-reperfusion. *Free Radic Biol Med.* 2002;33:649-58.
53. Virlos IT, Inglott FS, Williamson RC, Mathie RT. Differential expression of pulmonary nitric oxide synthase isoforms after intestinal ischemia-reperfusion. *Hepatogastroenterology.* 2003;50:31-6.
54. Kosonen O, Kankaanranta H, Malo-Ranta U, Moilanen E. Nitric oxide-releasing compounds inhibit neutrophil adhesion to endothelial cells. *Eur J Pharmacol.* 1999;382:111-7.
55. Guo JP, Murohara T, Buerke M, Scalia R, Lefer AM. Direct measurement of nitric oxide release from vascular endothelial cells. *J Appl Physiol.* 1996;81:774-9.
56. Gauthier TW, Davenpeck KL, Lefer AM. Nitric oxide attenuates leukocyte-endothelial interaction via P-selectin in splanchnic ischemia-reperfusion. *Am J Physiol.* 1994;267:G562-8.

-
57. Younes M, Shoenberg MH, Jung H, Fredholm BB, Haglund U, Schildberg FW. Oxidative tissue damage following regional intestinal ischemia and reperfusion in the cat. *Res Exp Med*. 1984; 184: 259-64.
58. Harrison R. Structure and function of xanthine oxidoreductase: Where are we now? *Free Radic Biol Med*. 2002;33:774-97.
59. Granger DN, Höllwarth ME, Parks DA. Ischemia-reperfusion injury: Role of oxygen-derived free radicals. *Acta Physiol Scand*. 1986;548:47s-63s.
60. Blum H, Summers JJ, Schnall MD, Barlow C, Leigh JS, Chance B, et al. Acute intestinal ischemia studies by phosphorus nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Ann Surg*. 1986 Jul; 204: 83–88.
61. Robinson W, Mirkovitch V, Winistörfer B, Saegesser F. Response of the intestinal mucosa to ischaemia. *Gut*. 1981;22:512-27.
62. Schoenberg MH, Beger HG. Oxygen radicals in intestinal ischemia and reperfusion. *Chem Biol Interactions*. 1990; 76: 141-161.
63. Granger DN. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia reperfusion injury. *Am J Physiol*. 1988; 255:H1269-75.
64. Grisham MB, Hernandez LA, Granger DN. Xantine oxidase and neutrophil infiltration in intestinal ischemia. *Am J Physiol*. 1986; 251: G567-74.
65. Zimmermann BJ, Granger DN. Reperfusion injury. En: Boley SJ, Brandt LJ, eds. *Surg Clin North Am*. Philadelphia: Interamericana; 1992;72:61-78.
66. Nilsson UA, Schoenberg MH, Aneman A, Poch B, Magadum S, Beger HG, et al. Free radicals and pathogenesis during ischemia and reperfusion of the cat small intestine. *Gastroenterology*. 1994; 106: 629-36.
67. Watson MJ, Ke B, Shen XD, Gao F, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW, et al. Intestinal ischemia/reperfusion injury triggers activation of innate toll-like

- receptor 4 and adaptive chemokine programs. *Transplant Proc.* 2008;40:3339-41.
68. Barnes PJ. Nuclear factor-kappa B. *Int J Biochem Cell Biol.* 1997;29:867-70.
69. Akahori T, Sho M, Kashizuka H, Nomi T, Kanehiro H, Nakajima Y. A novel CCR5/CXCR3 antagonist protects intestinal ischemia/reperfusion injury. *Transplant Proc.* 2006;38:3366-8.
70. Stojadinovic A, Kiang J, Smallridge R, Galloway R, Shea-Donohue T. Induction of heat-shock protein 72 protects against ischemia/reperfusion in rat small intestine. *Gastroenterology.* 1995;109:505-15.
71. Tsuruma T, Yagihashi A, Tarumi K, Sasaki K, Watanabe N, Hirata K. Induction of heat shock protein-73 reduces ischemia-reperfusion injury in rat small intestine. *Transplant Proc.* 1998;30:3449-51.
72. Ozel SK, Yuksel M, Haklar G, Durakbasa CU, Dagli TE, Aktan AO. Nitric oxide and endothelin relationship in intestinal ischemia/reperfusion injury. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2001; 64: 253-57.
73. Wolfard A, Szalay L, Kaszaki J, Sahin-Toth G, Vangel R, Balogh A, et al. Dynamic in vivo observation of villus microcirculation during small bowel autotransplantation: effects of endothelin-A-receptor inhibition. *Transplantation.* 2002;73:1511-4.
74. Oktar BK, Coskun T, Bozkurt A, Yegen BC, Yuksel M, Haklar G, et al. Endothelin-1-induced PMN infiltration and mucosal dysfunction in the rat small intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2000;279:G483-G91.
75. Lugowska-Umer H, Umer A, Sein-Anand J, Sokołowska-Wojdyło M, Włodarkiewicz A, Korolkiewicz RP. Endothelin receptor blockers protect against ischemia/reperfusion impairment of gastrointestinal motility in rats. *Pharmacol Res.* 2008;57:413-8.

-
76. Austen Jr WG, Kobzik L, Carroll MC, Hechtman HB, Moore Jr FD. The role of complement and natural antibody in intestinal ischemia-reperfusion injury. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2003;16:1-8.
77. Heller T, Hennecke M, Baumann U, Gessner JE, zu Vilsendorf AM, Baensch M, et al. Selection of a C5a receptor antagonist from phage libraries attenuating the inflammatory response in immune complex disease and ischemia/reperfusion injury. *J Immunol.* 1999;163:985-94.
78. Wada K, Montalto MC, Stahl GL. Inhibition of complement C5 reduces local and remote organ injury after intestinal ischemia/reperfusion in the rat. *Gastroenterology.* 2001;120:126-33.
79. Tenhunen R, Marver HS, Schmid R. The enzymatic conversion of heme to bilirubin by microsomal heme oxygenase. *Proc Natl Acad Sci.* 1968; 61: 748-55.
80. Katori M, Busuttill RW, Kupiec-Weglinski JW. Heme oxygenase-1 system in organ transplantation. *Transplantation.* 2002;74: 905-12.
81. Choi AM, Alam J. Heme oxygenase-1: Function, regulation and implication of a novel stress-inducible protein in oxidant-induced lung injury. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1996; 15:9-19.
82. Maines MD. The heme oxygenase system: a regulator of second messenger gases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1997; 37: 517-54.
83. Nakao A, Kaczorowski DJ, Sugimoto R, Billiar TR, McCurry KR. Application of heme oxygenase-1, carbon monoxide and biliverdin for the prevention of intestinal ischemia/reperfusion injury. *J Clin Biochem Nutr.* 2008;42:78-88.
84. Hernandez LA, Grisham MB, Granger DN. A role for iron in oxidant-mediated ischemic injury to intestinal microvasculature. *Am J Physiol.* 1987;253:G49-G53.

-
85. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*. 1986; 74:1124-36
86. Hotter G, Closa D, Prados M, Fernández-Cruz L, Prats N, Gelpi E, et al. Intestinal preconditioning is mediated by a transient increase in nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun*. 1996;222:27-32.
87. Tahir M, Arshid S, Heimbecker AM, Castro MS, Souza EF, Fontes B, et al. Evaluation of the effects of ischemic preconditioning on the hematological parameters of rats subjected to intestinal ischemia and reperfusion. *Clinics (Sao Paulo)*. 2015; 70: 61-8.
88. Mallick IH, Yang W, Winslet MC, Seifalian AM. Ischemia-reperfusion injury of the intestine and protective strategies against injury. *Dig Dis Sci*. 2004;49:1359-1377.
89. Chen Y, Lee SH, Tsai YH, Tseng SH. Ischemic preconditioning increased the intestinal stem cell activities in the intestinal crypts in mice. *J Surg Res*. 2014; 187: 85-93.
90. Wen SH, Ling YH, Li C, Liu JX, Li YS, Yao X, et al. Ischemic postconditioning during reperfusion attenuates oxidative stress and intestinal mucosal apoptosis induced by intestinal ischemia/reperfusion via aldose reductase. *Surgery*. 2013; 153: 555-64.
91. Argaud L, Gateau-Roesch O, Raisky O, Loufouat J, Robert D, Ovize M. Postconditioning inhibits mitochondrial permeability transition. *Circulation*. 2005; 111: 194-7.
92. Mykytenko J, Reeves JG, Kin H et al. Persistent beneficial effect of postconditioning against infarct size: role of mitochondrial K (ATP) channels during reperfusion. *Basic Res Cardiol*. 2008; 103:472-84.

-
93. Penna C, Cappello S, Mancardi D et al. Post-conditioning reduces infarct size in the isolated rat heart: role of coronary flow and pressure and the nitric oxide/cGMP pathway. *Basic Res Cardiol.* 2006; 101: 168-79.
94. Sengul I, Sengul D, Guler O, Hasanoglu A, Urhan MK, Taner AS, et al. Postconditioning attenuates acute intestinal ischemia-reperfusion injury. *Kaohsiung J Med Sci.* 2013; 29: 119-27.
95. Rosero O, Onody P, Stangl R, Turoczi Z, Fulop A, Garbaisz D, et al. Postconditioning of the small intestine: which is the most effective algorithm in a rat model? *J Surg Res.* 2014; 187: 427-37.
96. Rosero O, Onody P, Kovács T, Molnár D, Lotz G, Toth S, et al. Impaired intestinal mucosal barrier upon ischemia-reperfusion: “patching holes in the shield with a simple surgical method”. *Biomed Res Int.* 2014; 2014: 1-11.
97. O’Donnell KA, Caty MG, Zheng S, Rossman JE, Azizkhan RG. Oxygenated intraluminal perfluorocarbon protects intestinal mucosa from ischemia/reperfusion injury. *J Pediatr Surg.* 1997;32:361-5.
98. Souza DG, Coutinho SF, Silveira MR, Cara DC, Teixeira MM. Effects of a BLT receptor antagonist on local and remote reperfusion injuries after transient ischemia of the superior mesenteric artery in rats. *Eur J Pharmacol.* 2000;403:121-8.
99. Souza DG, Cara DC, Cassali GD, Coutinho SF, Silveira MR, Andrade SP, et al. Effects of the PAF receptor antagonist UK74505 on local and remote reperfusion injuries following ischaemia of the superior mesenteric artery in the rat. *Br J Pharmacol.* 2000;131:1800-8.
100. Sun Z, Olanders K, Lasson A, Dib M, Annborn M, Andersson K, et al. Effective treatment of gut barrier dysfunction using an antioxidant, a PAF inhibitor, and monoclonal antibodies against the adhesion molecule PECAM-1. *J Surg Res.* 2002;105:220-33.

-
101. Souza DG, Cassali GD, Poole S, Teixeira MM. Effects of inhibition of PDE4 and TNF-alpha on local and remote injuries following ischaemia and reperfusion injury. *Br J Pharmacol.* 2001;134:985-94.
102. Hassoun HT, Zou L, Moore FA, Kozar RA, Weisbrodt NW, Kone BC. Alpha-melanocyte-stimulating hormone protects against mesenteric ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2002;282:G1059-68.
103. Suzuki T, Yamashita K, Jomen W, Ueki S, Aoyagi T, Fukai M, et al. The novel NF-kappaB inhibitor, dehydroxymethylepoxyquinomicin, prevents local and remote organ injury following intestinal ischemia/reperfusion in rats. *J Surg Res.* 2008;149:69-75.
104. Oltean M, Pullerits R, Zhu C, Blomgren K, Hallberg EC, Olausson M. Donor pretreatment with FK506 reduces reperfusion injury and accelerates intestinal graft recovery in rats. *Surgery.* 2007;141:667-77.
105. Ypsilantis P, Tentes I, Lambropoulou M, Anagnostopoulos K, Papadopoulos N, Kortsaris A, et al. Prophylaxis with mesna prevents oxidative stress induced by ischemia reperfusion in the intestine via inhibition of nuclear factor-kappaB activation. *J Gastroenterol Hepatol.* 2008;23:328-35.
106. Devecí E. Role of allopurinol, verapamil, dexamethasone and trifluoperazine as prophylactic agents in intestinal ischemia-reperfusion. *Anal Quant Cytol Histol.* 2008;30:99-104.
107. Arumugan TV, Shiels IA, Woodruff TM, Reid RC, Fairlie DP, Taylor SM. Protective effect of a new c5a receptor antagonist against ischemia-reperfusion injury in the rat small intestine. *J Surg Res.* 2002;103:260-7.
108. Williams JP, Pechet TT, Weiser MR, Reid R, Kobzik L, Moore FD Jr, et al. Intestinal reperfusion injury is mediated by IgM and complement. *J Appl Physiol.* 1999;86:938-42.

-
109. Fukatsu K, Lundberg AH, Hanna MK, Wu Y, Wilcox HG, Granger DN, et al. Increased expression of intestinal P-selectin and pulmonary E-selectin during intravenous total parenteral nutrition. *Arch Surg.* 2000;135:1177-82.
110. Kalia N, Brown NJ, Hopkinson K, Stephenson TJ, Wood RF, Pockley AG. FK 409 inhibits both local and remote organ damage after intestinal ischaemia. *J Pathol.* 2002;197:595-602.
111. Xia G, Martin AE, Besner GE. Heparin-binding EGF-like growth factor down regulates expression of adhesion molecules and infiltration of inflammatory cells after intestinal ischemia/reperfusion injury. *J Pediatr Surg.* 2003;38:434-9.
112. Naito Y, Katada K, Takagi T, Tsuboi H, Kuroda M, Handa O, et al. Rosuvastatin reduces rat intestinal ischemia-reperfusion injury associated with the preservation of endothelial nitric oxide synthase protein. *World J Gastroenterol.* 2006;12:2024-30.
113. Ziegler TR, Estivariz CF, Jonas CR, Gu LH, Jones DP, Leader LM. Interactions between nutrients and peptide growth factors in intestinal growth, repair, and function. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1999;23:S174-83.
114. Li YS, Li JS, Jiang JW, Liu FN, Li N, Qin WS, et al. Glycyl-glutamine-enriched long-term total parenteral nutrition attenuates bacterial translocation following small bowel transplantation in the pig. *J Surg Res.* 1999;82:106-11.
115. Kelly D, Wischmeyer PE. Role of L-glutamine in critical illness: new insights. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2003;6:217-22.
116. Tamaki T, Konoeda Y, Yasuhara M, Tanaka M, Yokota N, Hayashi T, et al. Glutamine-induced heme oxygenase-1 protects intestines and hearts from warm ischemic injury. *Transplant Proc.* 1999;31:1018-9.

-
117. Harward TR, Coe D, Souba WW, Klingman N, Seeger JM. Glutamine preserves gut glutathione levels during intestinal ischemia/reperfusion. *J Surg Res.* 1994;56:351-5.
118. Iijima S, Shou J, Naama H, Calvano SE, Daly JM. Beneficial effect of enteral glycine in intestinal ischemia/reperfusion injury. *J Gastrointest Surg.* 1997;1:61-68.
119. Zhong Z, Wheeler MD, Li X, Froh M, Schemmer P, et al. L-Glycine: A novel antiinflammatory, immunomodulatory, and cytoprotective agent. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2003;6:229-40.
120. García-Alonso I, Ortiz J, Basañez A, Portugal V, Méndez J. Cuantificación de lesiones en el síndrome de revascularización intestinal de la rata: método morfológico. *Gastroenterol Hepatol.* 1990; 13: 274-276.
121. Park PO, Haglund U, Bulkley GB, Fält K. The sequence of development of intestinal tissue injury after strangulation ischemia and reperfusion. *Surgery.* 1990;107:574-80.
122. Bhaskar L, Mathan MM, Balasubramanian KA. Oxygen free radical-induced damage during colonic ischemic/reperfusion in rats. *Mol Cell Biochem.* 1995;151:9-14.
123. Desa DJ. The spectrum of ischemic bowel disease in the newborn. *Perspect Pediatr Pathol.* 1976; 3:273-309.
124. Norris HT. Ischemic bowel disease: its spectrum. *Monogr Pathol.* 1977; 18:15-30.
125. Saegesser F, Loosli H, Robinson JW, Roenspies U. Ischemic diseases of the large intestine. *Int Surg.* 1981; 66: 103-17.
126. Gabbert H, Wagner R, Aust P, Höhn P. Ischemia and post-ischemic regeneration of the small intestinal mucosa. An enzyme-histochemical investigation. *Acta Histochem.* 1978; 63: 197-213.

-
127. Boros M, Takaichi S, Hatanaka K. Ischemic time-dependent microvascular changes and reperfusion injury in the rat small intestine. *J Surg Res.* 1995;59:311-20.
128. Campos ST, Timo-Laria C. The direct potencial of the intestinal wall. Its change in ischemia and revascularization. An experimental study in the rat. *Rev Bras Pesqui Med e Biol.* 1975; 8: 481-7.
129. Pillai SB, Luquette MH, Nowicki PT, Besner GE. Segmental intestinal ischemia: an improved method of producing small bowel injury. *J Invest Surg.* 1998; 11: 123-8.
130. Cameron GR, Khanna SD. Regeneration of the intestinal villi after extensive mucosal infarction. *J Pathol Bacteriol.* 1959;77:505-10.
131. Haith EE, Schloerb PR. Influence of temperature on tolerance of the small bowel to arterial occlusion. *Ann Surg.* 1963; 157:78-82.
132. Payne D, Kubes P. Nitric oxide donors reduce the rise in reperfusion-induced intestinal mucosal permeability. *Am J Physiol.* 1993;265:G189-95.
133. Udassin R, Vromen A, Haskel Y. The time sequence of injury and recovery following transient reversible intestinal ischemia. *J Surg Res.* 1994;56:221-5.
134. Pérez M, Pérez A, Santos A, Terron J, Gómez A. Aspectos morfológicos y evolutivos de la isquemia intestinal experimental. *Rev Esp Enferm Apar Dig.* 1980; 58: 231-40.
135. Park PO, Haglund U. Regeneration of small bowel mucosa after intestinal ischemia. *Crit Care Med.* 1992; 20: 135-9.
136. Komarek V, Gembardt C, Krinke A, Mahrous TA, Schaetti P. Synopsis of the organ anatomy. En: Krinke GJ, editor. *The laboratory rat.* London: Academic Press; 2000. p. 292.

-
137. Hofstetter J, Suckow MA, Hickman DL. Morphophysiology. En: Suckow MA, Weisbroth SH, Franklin CL, editores. The laboratory rat. 2ª ed. London: Elsevier; 2006. p 103-4.
138. Senoo H. Digestion, metabolism. En: Krinke GJ, editor. The laboratory rat. London: Academic Press; 2000. p. 359-83.
139. Wolthers T, Grofte T, Flyvbjerg A, Frystyk J, Vilstrup H, Orskov H, et al. Dose-dependent stimulation of insulin-like growth factor-binding protein-1 by lanreotido, a somatostatin analog. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994;78:141-4.
140. Clarke RM. Mucosal architecture and epithelial cell production rate in the small intestine of the albino rat. *J Anat.* 1970;107:519-29.
141. Boyne R, Fell BF, Robb I. The surface area of the intestinal mucosa in the lactating rat. *J Physiol.* 1966;183:570-5.
142. Permezel NC, Webling DD. The length and mucosal surface area of the small and large gut in young rats. *J Anat.* 1971;108:295-6.
143. Stümpel F, Scholtka B, Jungermann K. Stimulation by portal insulin of intestinal glucose absorption via hepatoenteral nerves and prostaglandin E2 in the isolated, jointly perfused small intestine and liver of the rat. *Ann N Y Acad Sci.* 2000;915:111-6.
144. Ziv E, Bendayan M. Intestinal absorption of peptides through the enterocytes. *Microsc Res Tech.* 2000;49:346-52.
145. Pellegrini F, Cortesini C, Rogmanoli P. Ultrastructure of the tunica muscularis of the cardiac portion of the human esophagus and stomach with special reference to the so-called Cajal's interstitial cells. *Arch Ital Anat embriol.* 1977; 82:157-177.
146. DeSesso JM, Jacobson CF. Anatomical and physiological parameters affecting gastrointestinal absorption in humans and rats. *Food Chem Toxicol.* 2001;39: 209-228.

-
147. Thomson ABR, Keelan M, Thiesen A, Clandinin MT, Ropeleski M, Wild GE. Small bowel review-Normal physiology part 1. *Dig Dis Sci.* 2001;46:2567-87.
148. Hei ZQ, Gan XL, Huang PJ, Wei J, Shen N, Gao WL. Influence of Ketotifen, Cromolyn Sodium, and Compound 48/80 on the survival rates after intestinal ischemia reperfusion injury in rats. *BMC Gastroenterol.* 2008;8:42.
149. Stone E. An account of the success of the bark of the willow tree in the cure of agues. *Philos Trans R Soc Lond.* 17963; 53:195-200.
150. Dreser H. Pharmakologisches über aspirin (acetylsalicylsäure). *Pfluger's Arch.* 1899; 76:306-318.
151. Weiss HJ, Aledort LM. Impaired platelet-connective-tissue reaction in man after aspirin ingestion. *Lancet.* 1967; 2:495-497.
152. Insel PA. Analgesic, antipyretic and anti-inflammatory agents: drugs employed in the treatment of gout. En: J. G. Hardman, *The pharmacological basis of therapeutics.* 9^a edition. New York: McGraw-Hill; 1996. p. 617-657.
153. Vainio H, Morgan G. Aspirin for the second hundred years: new uses for an old drug. *Pharmacol Toxicol.* 1997; 81:151-2.
154. Smith WL. Prostanoid biosynthesis and the mechanism of action. *Am J Physiol.* 1992, 263:F118-F191.
155. Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. Cyclooxygenases 1 and 2. *Ann Rev Pharmacol Toxicol.* 1998; 38:97-120.
156. Ghiselli A, Laurenti O, DeMattia G, Maiani G, Ferro-Luzzi A. Salicylate hydroxylation as an early marker of in vivo oxidative stress in diabetic patients. *Free Rad Biol Med.* 1992; 13:621-6.
157. Duelsner A, Gatzke N, Glaser J, Hillmeister P, Li M, Lee EJ, et al. Acetylsalicylic acid, but not clopidogrel, inhibits therapeutically induced

cerebral arteriogenesis in the hypoperfused rat brain. *J Cereb Blood Flow Metabol.* 2012; 32:105-14.

158. Marcus AJ. Aspirin as prophylaxis against colorectal cancer. *N Engl J Med.* 1995; 333:656-58.

159. Doutremepuich C, Aguejof O, Desplat V, Eizayaga FX. Paradoxical trombotic effects of aspirin: experimental study on 1000 animals. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets.* 2010; 10:103-10.

160. Aguejof O, Belougne-Malfatti E, Doutremepuich F, Belon P, Doutremepuich C. Thrombo-embolic complications several days after a single-dose administration of aspirin. *Thromb Res.* 1998. 89:123-27.

161. Halawani SHM, Williams DJP, Webster J, Greaves M, Ford I. Aspirin failure in patients presenting with acute cerebrovascular ischaemia. *Thromb Haemost.* 2011; 106:240-47.

162. Mohler ER 3rd. Combination antiplatelet therapy in patients with peripheral arterial disease: is the best therapy aspirin, clopidogrel or both? *Catheter Cardiovasc Interv.* 2009; 1: 74. Suppl 1:S1-6.

163. Awtry EH, Loscalzo J. Aspirin. *Circulation* 2000; 101:1206-18.

164. Bowry AD, Brookhart MA, Choudhry NK. Meta-analysis of the efficacy and safety of clopidogrel plus aspirin as compared to antiplatelet monotherapy for the prevention of vascular events. *Am J Cardiol.* 2008; 101:960-6.

165. Daykin HJ, Sturgeon SA, Jones C, Wright CE. Arterial antithrombotic effects of aspirin, heparin, enoxaparin and clopidogrel alone or in combination, in the rat. *Thromb Res.* 2006; 118:755-62.

166. Boeri D, Maiello M, Lorenzi M. Increased prevalence of microthromboses in retinal capillaries of diabetic individuals. *Diabetes.* 2001; 50:1432-9.

167. Ticlopidine treatment reduces the progression of nonproliferative diabetic retinopathy. The TIMAD Study Group. *Arch Ophthalmol.* 1990; 108:1577-83.
168. Peter FW, Franken RJ, Wang WZ, Anderson GL, Schuschke DA, O'Shaughnessy MM, et al. Effect of low dose aspirin on thrombus formation at arterial and venous microanastomoses and on the tissue microcirculation. *Plast Reconstr Surg.* 1997; 99:1112-21.
169. Usman MH, Notaro LA, Nagarakanti R, Brahin E, Dessain S, Gracely E, et al. Combination antiplatelet therapy for secondary stroke prevention: enhanced efficacy or double trouble? *Am J Cardiol.* 2009;103:1107-12.
170. Ficha técnica Inyesprin. Agencia española de medicamentos y productos sanitarios. Ministerio de sanidad y consumo. Disponible en: http://www.aemps.gob.es/cima/pdfs/es/ft/51209/FT_51209.pdf
171. D'Sa S, Machin SJ. Clopidogrel: a novel antiplatelet agent. *Hosp Med.* 1999; 60:362-3.
172. A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). *Lancet.* 1996; 348:1329-39.
173. Savi P, Herbert JM. Clopidogrel and ticlopidine: P2Y₁₂ adenosine diphosphate-receptor antagonists for the prevention of atherothrombosis. *Semin Thromb Hemost.* 2005; 31:174-83.
174. Easton J. Clinical aspects of the use of clopidogrel, a new antiplatelet agent. *Seminars in Thrombosis Hemostasis.* 1999; 25:77-82.
175. Pierce CH, Houle JM, Dickinson JP, Kindermans M, Serre-Lacroix E, Kieffer G, et al. Clopidogrel and drug metabolism: absence of effect on hepatic enzymes in healthy volunteers. *Semin Thromb Hemost.* 1999; 2:35-9.
176. Yang LH, Hoppensteadt D, Farred J. Modulation of vasoconstriction by clopidogrel and ticlopidine. *Thromb Res.* 1998; 92:83-9.

-
177. Lee JH, Park SY, Lee WS, Hong KW. Lack of antiapoptotic effects of antiplatelet drug, aspirin and clopidogrel and antioxidant MCI-186, against focal ischemic brain damage in rats. *Neurol Res.* 2005; 27:483-92.
178. Moore MG, Deschler DG. Clopidogrel (Plavix) reduces the rate of thrombosis in the rat tuck model for microvenous anastomosis. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2007; 136:573-6.
179. Yao SK, Ober JC, Ferguson JJ, Maffrand JP, Anderson HV, Buja LM, et al. Clopidogrel is more effective than aspirin as adjuvant treatment to prevent reocclusion after thrombolysis. *Am J Physiol.* 1994; 267:H488-93.
180. Nayak VK, Deschler DG. Clopidogrel use for reducing the rate of thrombosis in a rat model of microarterial anastomosis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2005; 131:800-3.
181. Warnholtz A, Ostad MA, Velich N, Trautmann C, Schinzel R, Walter U, et al. A single loading dose of clopidogrel causes dose-dependent improvement of endothelial dysfunction in patients with stable coronary artery disease: results of a double-blind, randomized study. *Atherosclerosis.* 2008; 196:689-95.
182. Heitzer T, Rudolph V, Schwedhelm E, Karstens M, Sydow K, Ortak M, et al. Clopidogrel improves systemic endothelial nitric oxide bioavailability in patients with coronary artery disease: evidence for antioxidant and antiinflammatory effects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006; 26:1648-52.
183. Hankey GJ, Sudlow CLM, Dunbabin DW. Derivados de la tienpiridina (ticlopidina, clopidogrel) versus la aspirina para prevenir el accidente cerebrovascular y otros eventos vasculares serios en pacientes de alto riesgo vascular. En: *la Biblioteca Cochrane Plus*, 2008 Número 2.
184. Taka T, Okano E, Seki J, Yamamoto J. Effects of clopidogrel on platelet activation and coagulation of non-anticoagulated rat blood under high shear stress. *Haemostasis.* 1999; 29:189-96.

-
185. Mehta SR, Yusuf S. The clopidogrel in unstable angina to prevent recurrent events (CURE) trial programme; rationale, design and baseline characteristics including a meta-analysis of the effects of thienopyridines in vascular disease. *Eur Heart J.* 2000; 21:2033-41.
186. Beinart SC, Kolm P, Veledar E, et al. Long-term cost effectiveness of early and sustained dual oral antiplatelet therapy with clopidogrel given for up to one year after percutaneous coronary intervention results: from the Clopidogrel for the Reduction of Events During Observation (CREDO) trial. *J Am Coll Cardiol.* 2005, 46:761-9.
187. Serebruany VL, Malinin AI, Jerome SD, Lowry DR, Morgan AW, Sane DC, et al. Effects of clopidogrel and aspirin combination versus aspirin alone on platelet aggregation and major receptor expression in patients with heart failure: The Plavix Use for Treatment Of Congestive Heart Failure (PLUTO-CHF) trial. *Am Heart J.* 2003; 146:713-20.
188. Puras E. Antiagregación plaquetaria en la enfermedad arterial oclusiva: clopidogrel. *Ann Vasc Surg.* 2009; 23:37-43.
189. Lepäntalo A, Virtanen KS, Heikkilä J, Wartiovaara U, Lassila R. Limited early antiplatelet effect of 300 mg clopidogrel in patients with aspirin therapy undergoing percutaneous coronary interventions. *Eur Heart J.* 2004; 25:476-83.
190. Gurbel PA, Bliden KP, Hiatt BL, O'Connor CM. Clopidogrel for coronary stenting: response variability, drug resistance, and the effect of pretreatment platelet reactivity. *Circulation.* 2003; 107:2908-13.
191. Ficha técnica clopidogrel. Agencia española de medicamentos y productos sanitarios. Ministerio de sanidad y consumo. Disponible en: http://www.aemps.gob.es/cima/pdfs/es/ft/71660/FT_71660.pdf

-
192. Granger DN, Sennett M, McElearney P, Taylor AE. Effect of local arterial hypotension on cat intestinal capillary permeability. *Gastroenterology*. 1980; 79: 474-80.
193. Morini S, Elias G, Brown M, Subbotin V, Rastellini C, Cicalese L. Chronic morpho-functional damage as a consequence of transient ischemia/reperfusion injury of the small bowel. *Histol Histopathol*. 2010; 25: 277-86.
194. Sánchez J. El síndrome de revascularización intestinal. Estudio experimental. *Rev Quirúrgica Esp*. 1980, 7:134-140.
195. Vaquero C, González J, Rodríguez LA, Diago MV, Verrier A. La rata como animal de experimentación. *Manual de microcirugía experimental en la rata*. Valladolid. 1988. p 21-49.
196. Haglind E, Falk A, Haglund U. The effects of 5 HT blockade in graded intestinal vascular obstruction in the rat. *Acta Chir Scand*. 1983; 149:273-77.
197. Haglind E, Haglund U, Lundgren O, Stenberg B. Mucosal lesions of the small intestine after intestinal vascular obstruction in the rat. *Acta Chir Scand*. 1985; 151:147-150.
198. Xian Y, Wang TY, McCoy LA, Efron MB, Henry TD, Bach RG, et al. Association of discharge aspirin dose with outcomes after acute myocardial infarction: insights from the treatment with ADP receptor inhibitors: longitudinal assessment of treatment patterns and events after acute coronary syndrome (TRANSLATE-ACS) study. *Circulation*. 2015; 132:174-81.
199. Schrör K. Clinical pharmacology of the adenosine diphosphate (ADP) receptor antagonist, clopidogrel. *Vasc Med*. 1998; 3:247-51.
200. Heitzer T, Rudolph V, Schwedhelm E, Karstens M, Sydow K, Ortak M, et al. Clopidogrel improves systemic endothelial nitric oxide bioavailability in

patients with coronary artery disease: evidence for antioxidant and antiinflammatory effects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006; 26:1648-52.

201. Giachini FR, Osmond DA, Zhang S, Carneiro FS, Lima VV, Inscho EW, et al. Clopidogrel, independent of vascular P2Y12 receptor, improves the arterial function in small mesenteric arteries from Ang II-hypertensive rats. *Clin Sci.* 2010; 118:463-71.

202. Jarvis B, Simpson K. Clopidogrel: a review of its use in the prevention of atherothrombosis. *Drugs.* 2000; 60:347-377.

203. Quaedackers JS, Beuk RJ, Bennet L, Charlton A, oude Egbrink MgG, Gunn AJ, et al. An evaluation of methods for grading histologic injury following ischemia-reperfusion of the small bowel. *Transplant Proc.* 2000; 32:1307-10.

204. Weixiong H, Aneman A, Nilsson U, Lundgren O. Quantification of tissue damage in the feline small intestine during ischaemia-reperfusion: the importance of free radicals. *Acta Physiol Scand.* 1994; 150: 241-50.

205. Guzman-de la Garza FJ, Ibarra-Hernández JM, Cordero-Pérez P, Villegas-Quintero P, Villareal-Ovalle CI, Torrez-González L, et al. Temporal relationship of serum markers and tissue damage during acute intestinal ischemia-reperfusion. *Clinics (Sao Paulo).* 2013; 68: 1034-8.

206. 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.

207. Albin RL. Sham surgery controls are mitigated trolleys. *J Med Ethics.* 2005;31:149-52.

208. Haglund U, Hulten L, Ahren C, Lundgren O . Mucosal lesions in the human small intestine in shock. *Gut.* 1975; 16:979-84.

209. Haglund U, Lundgren O. Intestinal ischemia and shock factors. *Federation Proc.* 1978; 37:2729-33.
210. Parks DA, Bulkley GB, Granger DN, Hamilton SR, McCord JM. Ischemic injury to the cat small intestine: role of superoxide radicals. *Gastroenterology.* 1982; 82:9-15.
211. Lundgren O, Haglund U. The pathophysiology of the intestinal counter-current exchanger. *Life Sci.* 1978; 23:1411-22.
212. Schoenberg MH, Muhl E, Sellin D, Younes M, Schildberg FW, Haglund U. Posthypotensive generation of superoxide free radicals possible role in the pathogenesis of the intestinal mucosa damage. *Acta Chir Scand.* 1984; 150:301-309.
213. Granger DN, Rutili G, McCord JM. Superoxide radicals in feline intestinal ischemia. *Gastroenterology.* 1981; 81:22-29.
214. Parks DA, Granger DN. Ischemia-induced microvascular changes: role of xanthine oxidase and hydroxyl radicals. *Am J Physiol.* 1983; 245:G285-89.
215. Herreros J, Diago MV, Rodríguez-Toves A, Vaquero C. Estudio de la regeneración de la mucosa intestinal tras isquemia mesentérica en la rata. *Cir Esp.* 2000; 67: 323-326.
216. Parks DA, Granger DN. Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. *Am J Physiol.* 1986; 250: G749-53.
217. Cáceres F, Castañón M, Lerena J, Cusi V, Badosa J, Morales L. Flujo mesentérico en un modelo experimental por isquemia-reperfusión en ratas. *An Pediatr (Barc).* 2014; 80: 151-58.
218. Kotani T, Komatsu Y, Nakamori Y, Takeuchi K. A novel model of ischemic enteritis induced in rats by stenosis of the superior mesenteric artery. *Life sciences.* 2009; 84: 615-21.

219. Picazo M, Cuxart M, Sans R, Sarda C, Exposit E. Mesenteric ischemia in hemodialysis patients. *Nefrología*. 2008; 28:198-202.
220. Haj B, Sukhotnik I, Shaoul R, Pollak Y, Coran AG, Bitterman A, et al. Effect of ozone on intestinal recovery following intestinal ischemia-reperfusion injury in a rat. *Pediatr surg Int*. 2014; 30: 181-88.
221. Jung KH, Chu K, Lee ST, Yoon HJ, Chang JY, Nam WS, et al. Prolonged use of aspirin alters human and rats intestinal cells and thereby limits the absorption of clopidogrel. *Clin Pharmacol Ther*. 2011; 90: 612-19.
222. Niitsu Y, Jakubowski JA, Sugidachi A, Asai F. Pharmacology of CS-747 (prasugrel, LY640315) a novel, potent antiplatelet agent with in vivo P2Y₁₂ receptor antagonist activity. *Semin Thromb Hemost*. 2005; 31: 184-94.
223. Pillai SB, Hinman CE, Luquette MH, Nowicki PT, Besner GE. Heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor protects rat intestine from ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res*. 1999; 87: 225-31.

