

TERTIA



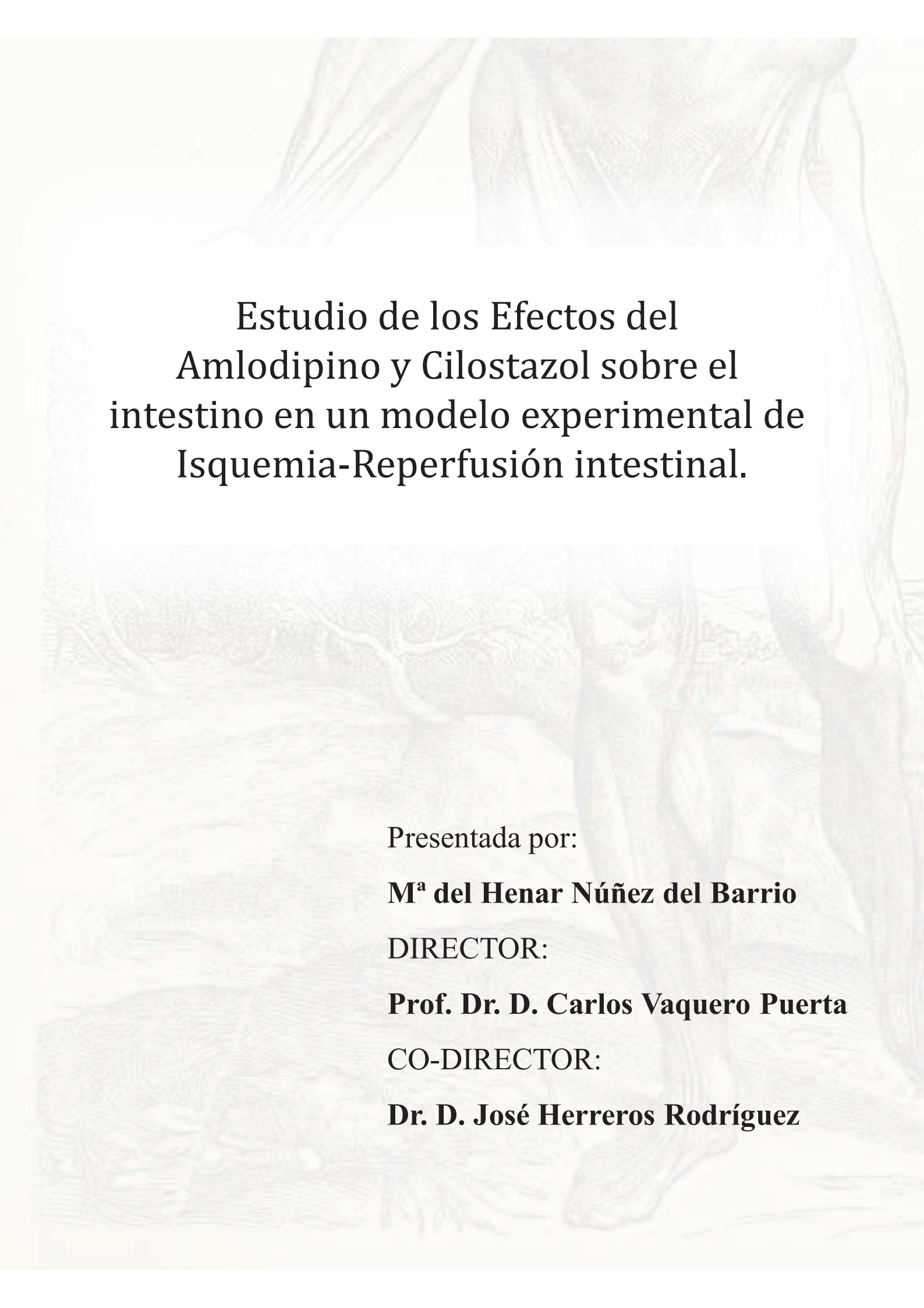
Universidad de Valladolid

Facultad de Medicina
Departamento de Cirugía

TESIS DOCTORAL

Estudio de los Efectos del
Amlodipino y Cilostazol sobre el
intestino en un modelo experimental de
Isquemia-Reperfusión intestinal.

2012



**Estudio de los Efectos del
Amlodipino y Cilostazol sobre el
intestino en un modelo experimental de
Isquemia-Reperfusión intestinal.**

Presentada por:

M^a del Henar Núñez del Barrio

DIRECTOR:

Prof. Dr. D. Carlos Vaquero Puerta

CO-DIRECTOR:

Dr. D. José Herreros Rodríguez

AGRADECIMIENTOS

Al Prof. Dr. D. Carlos Vaquero Puerta, por aportarme su experiencia y dedicación y a quien debo la dirección de esta tesis doctoral.

Al Dr. D. José Herreros Rodríguez, por su motivación, constancia y por haber colaborado en la dirección de este trabajo.

Al Dr. D. Carlos Abril Vega, por todo lo que me ha aportado como profesional de la medicina y por sus consejos para conseguir realizar esta tesis.

Al Prof. Dr. D. Pedro Gago Romón, a quien admiro como docente incansable. Agradezco su apoyo y todo lo que me ha aportado profesionalmente.

Al Dr. D. Enrique San Norberto García, por su colaboración y ayuda en el estudio estadístico.

A Dña. María Victoria Valdivieso por su trabajo en la realización de las preparaciones histológicas.

A D. Leví Núñez del Barrio, mi hermano, a quien agradezco su actitud crítica, ayuda en el manejo estadístico de los resultados y su apoyo continuo.

A todas las personas que me han animado y apoyado durante la realización de este trabajo, siento no haberles dedicado todo el tiempo que se merecían.

**A mi marido, Javi,
a mis padres, Jacinto y Elena,
por su paciencia infinita y apoyo
incondicional, con mucho cariño.**

ÍNDICE

<u>1. Introducción</u>	1
1.1 Recuerdo anatómico e histológico del intestino delgado en el hombre	3
1.1.1 Anatomía macroscópica del intestino delgado	3
1.1.2 Vascularización arterial y venosa, sistema linfático e inervación del intestino delgado	6
1.1.2.1 Duodeno	6
1.1.2.2 Yeyuno-íleon	7
1.1.2.3 Fisiología de la circulación intestinal	12
1. 1. 3 Recuerdo histológico del intestino delgado	17
1.1.3.1 Serosa	17
1.1.3.2 Muscular	17
1.1.3.3 Submucosa	18
1.1.3.4. Mucosa	18
1.1.3.4.1 Reemplazo de la mucosa intestinal	20
1.1.3.4.2 Estructuras que aumentan la superficie de absorción de la mucosa	22
1.2 Modelo experimental: Recuerdo anatómico e histológico del intestino delgado de la rata	23
1.2.1 Anatomía macroscópica del intestino delgado de la rata	23
1.2.2. Anatomía de la circulación arterial y venosa del intestino de la rata	24
1.2.3 Histología del intestino de la rata	27
1.3 Isquemia mesentérica	30
1.3.1 Fisiopatología de la isquemia mesentérica	30

1.3.2	Epidemiología y etiología	32
1.3.3	Cuadros clínicos de isquemia mesentérica aguda	35
1.3.3.1	Embolia arterial	35
1.3.3.2	Trombosis arterial	37
1.3.3.3	Isquemia mesentérica aguda no oclusiva	38
1.3.3.4	Trombosis venosa	40
1.3.4	El síndrome de isquemia – reperfusión	41
1.3.4.1.	Concepto	41
1.3.4.2	Localización de la lesión por reperfusión	43
1.3.4.3	Mediadores de la isquemia-reperfusión intestinal	44
1.4	Modelos experimentales de isquemia intestinal	51
1.4.1	Animales de experimentación utilizados en modelos de isquemia	51
1.4.2	Modelo de isquemia intestinal en la rata	52
1.4.3	Histología de la isquemia - reperfusión intestinal	53
1.5	Fármacos en isquemia- reperfusión intestinal	65
1.5.1	Modalidades terapéuticas en la isquemia-reperfusión intestinal	65
1.5.1.1	Precondicionamiento isquémico	65
1.5.1.2	Antioxidantes	66
1.5.1.3	Perfluorocarbonos	66
1.5.1.4	Terapia anti-leucocítica	67
1.5.1.5	Terapia anti-complemento	68
1.5.1.6	Nutrición enteral	68
1.5.1.7	Suplementación de óxido nítrico (NO)	69
1.5.1.8	Suplementación de glutamina	69
1.5.1.9	Suplementación de glicina	69

1.5.2 Amlodipino	70
1.5.2.1 Ficha técnica	73
1.5.3. Cilostazol	86
1.5.2.1 Ficha técnica	90
<u>2. Hipótesis de trabajo</u>	107
<u>3. Objetivos</u>	109
<u>4. Material y Métodos</u>	112
4.1. Animales	112
4.2. Protocolo quirúrgico	113
4.2.1. Anestesia	117
4.2.2. Práctica de la isquemia mesentérica	117
4.2.3. Revascularización	118
4.2.4. Extracción de muestras	118
4.3. Preparación de las muestras histológicas	118
4.3.1 Fijación	119
4.3.2. Lavado	119
4.3.3. Deshidratación	119
4.3.4. Inclusión en parafina	120
4.3.5. Formación de bloques y montaje	121
4.3.6. Desparafinación de los cortes	121
4.3.7. Tinción con hematoxilina-eosina	122
4.3.8. Aclaramiento y montaje	123
4.4. Técnicas de histomorfometría	123
4.4.1. Material	123
4.4.2. Métodos	124
4.5. Métodos estadísticos	129
4.5.1. Material	129
4.5.2. Métodos	129
4. 6. Principios y normas de experimentación animal	131

<u>5. Resultados</u>	133
5. 1. Mortalidad	134
5. 2. Altura de las vellosidades	134
5. 3. Anchura de las vellosidades	140
5. 4. Daño histológico de la mucosa	146
5. 5. Grosor total de la pared intestinal	152
5. 6. Profundidad de las criptas	158
<u>6. Discusión</u>	166
6. 1. Discusión del modelo experimental	166
6. 1. 1. Justificación del animal de experimentación	166
6. 1. 2. Justificación del modelo isquemia - reperfusión	167
6. 1. 3. Justificación de las técnicas de microscopía	168
6. 1. 4. Justificación de las sustancias a estudiar	169
6. 2. Discusión de los resultados	171
6. 2. 1. Altura de la vellosidad	171
6. 2. 2. Anchura de la vellosidad	172
6. 2. 3. Daño histológico de la mucosa	173
6. 2. 4. Grosor de la pared intestinal	173
6. 2. 5. Profundidad de las criptas	174
6. 3. Resumen de la discusión	174
<u>7. Conclusiones</u>	178
<u>8. Bibliografía</u>	180

INTRODUCCIÓN

1. Introducción

La primera descripción de isquemia mesentérica fue realizada en cadáver por un médico italiano, Antonio Benivene, a finales del siglo XV. Sin embargo, la isquemia intestinal no ha tenido una dedicación especial a lo largo de la Historia de la Medicina y hasta finales del siglo XIX no se encuentran los primeros trabajos publicados de esta patología. Es entonces, cuando Elliot describe el primer paciente que sobrevivió a una resección de un segmento de intestino por un infarto intestinal. Años más tarde, en 1957, Klass realizó la primera embolectomía con éxito, sin ser necesaria la resección intestinal. No obstante, la definición de Cookins en 1926 de la isquemia mesentérica como la enfermedad en la que el diagnóstico es imposible, el pronóstico desesperanzador y el tratamiento casi siempre inútil, sigue siendo hoy en día relativamente vigente.

Al pesimismo que acompaña a esta enfermedad han contribuido su baja frecuencia de presentación que la hace poco conocida y poco sospechada, su diagnóstico difícil y habitualmente tardío y sus dificultades terapéuticas, incluso en los casos de diagnóstico precoz, con unas elevadas cifras de mortalidad global.

La interrupción del riego sanguíneo conlleva un daño isquémico que, rápidamente, daña el metabolismo de los tejidos. Paradójicamente, la restauración del flujo de sangre a los tejidos isquémicos inicia una cascada de eventos que suponen un daño adicional a la célula previamente isquémica, conocido como daño por reperfusión. Diferentes mecanismos de protección han sido descritos, desde someter al paciente a cortos periodos de

isquemia (precondicionamiento) mediante ciclos de isquemia-reperusión, a administrar varias sustancias químicas como suplemento de la alimentación enteral o parenteral, por vía intraarterial o intravenosa. El trasladar su empleo a la práctica clínica choca con numerosos obstáculos, como son el estrecho margen terapéutico de algunos compuestos y su toxicidad, o impedimentos prácticos (procedimientos muy largos o altamente complicados). La alternativa ideal debería ser un compuesto de fácil administración, rapidez de efecto y con escasos efectos secundarios no deseables.

El amlodipino y cilostazol son fármacos empleados en la práctica clínica diaria por sus propiedades vasodilatadoras y antiagregantes, respectivamente. El amlodipino está indicado en el tratamiento de la hipertensión arterial y el cilostazol en el tratamiento de pacientes con claudicación intermitente.

Proponemos un estudio de investigación evaluando y comparando los posibles efectos beneficiosos de la administración de Amlodipino o Cilostazol sobre el daño provocado en la isquemia-reperusión intestinal, basando los hallazgos en el análisis morfométrico de la mucosa intestinal.

1.1 Recuerdo anatómico e histológico del intestino delgado en el hombre.

1.1.1 Anatomía macroscópica del intestino delgado (1-5)

El intestino delgado es una formación tubular que se extiende desde el píloro hasta la válvula ileocecal y que en el adulto tiene una longitud de 4 a 7 metros. Se distinguen tres partes, duodeno, yeyuno e íleon.

a) Duodeno

Es la porción más corta y se extiende desde el píloro al ángulo de Treitz donde se continúa con el yeyuno. La mayor parte del duodeno es retroperitoneal y sin meso lo que le hace estar fijo, adherido a la pared abdominal posterior, a diferencia de yeyuno e íleon que son muy móviles dentro de la cavidad abdominal.

Tiene una longitud aproximada de 25 cm. y se distinguen cuatro partes:

- Primera porción o bulbo duodenal
- Segunda porción o descendente: donde desembocan los conductos pancreáticos y el colédoco, a nivel de la ampolla de Vater
- Tercera porción o porción horizontal
- Cuarta porción o ascendente

1) Primera porción o bulbo duodenal:

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 borde interno de la arteria gastroduodenal.

2) Segunda porción o porción descendente :

Su cara anterior está cruzada por el colon transversal y por su meso, produciendo en el lóbulo derecho del hígado la impresión duodenal. Su cara posterior se aplica sobre la vena cava inferior, la arteria espermática derecha, el pedículo renal derecho, el uréter y el riñón, separada de ellos 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. Está cruzada por la arteria pancreatoduodenal inferior derecha.

3) Tercera porción o porción horizontal:

Los vasos mesentéricos superiores, rodeados por los elementos del grupo central de ganglios mesentéricos superiores, pasan entre las hojas del mesenterio por delante de la tercera porción del duodeno. La arteria cólica derecha superior nace por delante de esta parte del duodeno.

4) Cuarta porción o porción ascendente.

Su cara externa está más o menos cercana al borde interno del riñón izquierdo. Entre estos dos órganos sube el arco vascular de Treitz, formado por la vena mesentérica inferior y la arteria cólica izquierda superior. La extremidad superior de la cuarta porción del duodeno se une al yeyuno-íleon por el ángulo duodeno-yeyunal. 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.

b) Yeyuno-íleon

Se extiende desde el duodeno al intestino grueso. Comienza en el ángulo duodenoyeyunal y termina en el colon ascendente. Desde su origen a su terminación, el yeyuno-íleon describe alrededor de 15 a 16 grandes flexuosidades llamadas asas intestinales. Cada una de ellas tiene forma de U, de la cual las ramas más o menos paralelas están en contacto una con otra. Las asas están dispuestas de forma 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
- Un grupo inferior derecho, formado por asas verticales yuxtapuestas de izquierda a derecha y de adelante hacia atrás.

No existe un límite anatómico preciso entre el yeyuno e íleon, sino que más bien hay un cambio gradual en las características anatómicas de uno a otro. El yeyuno constituye aproximadamente los dos quintos proximales y el íleon los tres quintos 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 mayor vascularización que el íleon.

Yeyuno e íleon son relativamente móviles dentro del abdomen, estando unidos a la pared posterior abdominal -al peritoneo parietal- a través del meso del yeyuno-íleon que se denomina mesenterio.

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 abajo por toda la pared posterior del abdomen desde el lado izquierdo de la segunda vértebra lumbar hasta la articulación sacroiliaca derecha.

1.1.2 Vascularización arterial y venosa, sistema linfático e inervación del intestino delgado ^(1, 2, 3,6)

El intestino recibe su irrigación por tres arterias principales, ramas ventrales de la aorta abdominal, el tronco celiaco, la arteria mesentérica superior y la arteria mesentérica inferior. Exceptuando la primera parte del duodeno, la totalidad del intestino delgado recibe su sangre de la arteria mesentérica superior.

1.1.2.1 Duodeno.

a) Sistema arterial:

Las arterias del duodeno son:

- **Arterias pancreático-duodenales superior e inferior derechas**, ramas de la gastroduodenal.
- **Arteria pancreático-duodenal izquierda**, rama de la mesentérica superior. Se divide cerca de su origen en dos ramas, una superior y otra inferior, que se anastomosan en la cara posterior del páncreas con las pancreático-duodenales superior e inferior derechas.
- **Arteria primera intestinal**, 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, y rara vez de la pancreático-duodenal inferior.

b) Sistema venoso

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 pancreático-duodenal superior derecha aboca al tronco de la vena porta. La pancreático-duodenal inferior derecha 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 pancreático-duodenal izquierda termina igualmente en la mesentérica superior.

c) Sistema linfático

Los linfáticos del duodeno se vierten en los ganglios duodeno-pancreáticos anteriores y posteriores. Sin embargo, la primera porción es igualmente tributaria de los ganglios subpilóricos y la cuarta porción envía algunos linfáticos a un ganglio pancreático inferior cercano al ángulo duodenoyeyunal.

d) Inervación

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

1.1.2.2 Yeyuno-íleon.

a) Sistema arterial

Las arterias del yeyuno-íleon son las ramas intestinales de la mesentérica superior.

a.1) El sistema de la arteria mesentérica superior

La arteria mesentérica superior ofrece, en condiciones normales, riego arterial primario para yeyuno, íleon y colon hasta ángulo esplénico. Aunque existen colaterales que forman anastomosis con los sistemas de la mesentérica inferior y el tronco celiaco, éstas suelen ser insuficientes para prevenir el infarto en el caso de una oclusión vascular aguda.

La arteria mesentérica superior se inicia en la superficie ventral de la aorta, a nivel de la parte más alta de la primera vértebra lumbar, un centímetro por debajo del origen del tronco celiaco, por detrás del cuerpo del páncreas. Se dirige hacia delante, en dirección al borde superior de la tercera porción del duodeno y desciende por delante, sobre el gancho del páncreas. Tras sobrepasar la tercera porción del duodeno, la arteria se introduce en el mesenterio y se dirige en el interior de éste, abajo y a la derecha describiendo una curva de convexidad izquierda.

Las ramas de la arteria mesentérica superior son las siguientes:

- **Arteria pancreaticoduodenal 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. Debido a que el sitio de origen de la arteria pancreaticoduodenal inferior es el punto eje de la rotación del intestino embrionario, hay mucha variabilidad del origen de la arteria, originándose unas veces directamente de la primera rama yeyunal y otras de forma independiente. En ocasiones, existe un pequeño arco anastomótico entre la primera arteria yeyunal y la arteria pancreaticoduodenal inferior.
- **Ramas yeyunoileales** que en número de 10 a 20 van a irrigar las asas intestinales del yeyuno-íleon.
- **Arterias cólica media y cólica derecha,** que muchas veces se originan juntas en un tronco cólico común medio y derecho.
- **Arteria ileocecocólica.** Se origina a nivel más distal.
- La arteria mesentérica superior termina como una rama intestinal más que se anastomosa con la rama ileal de la arteria ileocecocólica.

Las arterias intestinales más altas son más gruesas que las inferiores. Cada una de ellas se bifurca a distancia del intestino y las dos ramas de división se anastomosan boca a boca con las ramas de las arterias intestinales 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 arterias intestinales por 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 yeyuno-íleon.

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. La división se realiza a una distancia considerable del intestino. A veces, se produce en el origen mismo del vaso recto. Frecuentemente, las ramas anterior y posterior nacen separadamente de los vasos paralelos.

Las ramas anterior y posterior de los vasos rectos caminan, en principio, bajo la serosa, 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 ramos terminales que divergen y se anastomosan con los ramos 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.

a.2) Anastomosis de la arteria mesentérica superior

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

mesentérica inferior. La posibilidad de que estas uniones arteriales puedan suplir el riego intestinal en los casos de obstrucción de la arteria mesentérica superior es más bien escasa. Las anastomosis arteriales, cuando existen, sólo son efectivas cuando la obstrucción se produce de manera lenta y progresiva, esto es, en la isquemia mesentérica crónica, pero no en los casos de isquemia mesentérica aguda a los que nos vamos a referir.

- Conexiones entre tronco celiaco y arteria mesentérica superior

El arco de Bühler es un conducto vascular que se establece entre la arteria mesentérica superior por abajo y el tronco celiaco, la arteria hepática común o la arteria esplénica por arriba. Aparece sólo en el 2 % de las angiografías y es vestigio de la anastomosis longitudinal ventral embrionaria de los vasos intestinales primitivos.

Los arcos pancreaticoduodenales se forman entre las arterias pancreaticoduodenales superiores, provenientes de la arteria gastroduodenal, y las arterias pancreaticoduodenales inferiores, provenientes de la arteria mesentérica superior.

Las ramas aberrantes de la arteria mesentérica superior pueden dar origen a vías colaterales importantes. Diversas ramas que pueden tener su origen en la arteria mesentérica superior son la arteria gastroduodenal (9%), o la arteria hepática común (24%). Estas arterias aberrantes, cuando existen, habitualmente hacen anastomosis con ramas originadas en el tronco celiaco.

- Conexiones entre las arterias mesentéricas superior e inferior

Las anastomosis entre los sistemas de la mesentérica superior y la inferior se establecen en el interior del mesocolon desde las ramas cólica media de la mesentérica superior y cólica izquierda de la mesentérica inferior.

La 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.

La arteria anastomótica central representa una anastomosis directa de las arterias cólica media y cólica izquierda. Es de disposición más central y de mayor calibre.

El arco o arteria de Riolano corre por la base del mesocolon y une la arteria cólica izquierda con la porción proximal de la arteria cólica media.

b) Sistema venoso

El retorno venoso se realiza por el sistema de la vena porta a través de la vena mesentérica superior, con una distribución semejante a la de la arteria, a la derecha de ésta en su trayecto en el interior del mesenterio.

c) Sistema linfático

Los linfáticos que salen de la pared del yeyuno-íleon son los quilíferos de Asellius. Van directamente a los elementos 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 yeyuno-íleon hacia el tronco lumbar izquierdo o a la cisterna de Pecquet, en parte, directamente por varios colectores llamados troncos intestinales y también por intermedio de ganglios preaórticos y lateroaórticos izquierdos próximos al pedículo renal.

d) Inervación

Los nervios proceden del plexo solar por el plexo mesentérico superior.

1.1.2.3 Fisiología de la circulación intestinal ⁽⁵⁻⁹⁾

El intestino recibe el 20 % del flujo sanguíneo y de éste el 65 % va a la mucosa. 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.

- **Flujo sanguíneo gastrointestinal, la circulación “esplácnica”.**

Los vasos sanguíneos del sistema gastrointestinal son una parte de un sistema mucho mayor llamado 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 suprahepáticas, que desembocan en la vena cava inferior. Este flujo de sangre a través del hígado permite a las células reticuloendoteliales, dispuestas linealmente en los sinusoides hepáticos, extraer las bacterias y otros agentes patógenos que podrían alcanzar el 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 a los mismos sinusoides. Allí las células reticuloendoteliales, las células parenquimales del hígado y las células hepáticas, absorben

y almacenan temporalmente de la mitad a tres cuartos 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 por los linfáticos intestinales, y conducidas a la circulación sanguínea sistémica a través del conducto torácico, evitando el paso por el hígado.

- **Regulación del flujo sanguíneo intestinal**

El flujo sanguíneo intestinal está regulado por el sistema nervioso autónomo, por factores humorales y por factores locales liberados durante la isquemia intestinal.

a) Control neurógeno. La estimulación de los nervios parasimpáticos que inervan el estómago y el colon distal incrementa el flujo de sangre local al mismo tiempo que aumenta la secreción glandular. Este incremento sanguíneo resulta secundariamente del aumento de la actividad glandular y no de 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 intensa 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 habituales 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 un 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 periodos 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 varias horas.

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 400 mililitros de sangre extra a la circulación general.

b) Control humoral. La angiotensina II tiene un importante efecto vasoconstrictor del área espláncnica. 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 espláncnica, 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.

c) Control local. Diversas prostaglandinas (PGF_2 , PGB_2 y PGD_2) y leucotrienos (LTC_4 y LTD_4) son vasoconstrictores intestinales. Otros metabolitos del ácido araquidónico, sin embargo, tienen acción vasodilatadora como se demuestra por la disminución del flujo espláncnico 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.

- **Efecto de la actividad intestinal y factores metabólicos en el flujo gastrointestinal.**

Bajo condiciones normales, el flujo sanguíneo de cada área del tracto gastrointestinal, como cada capa de la pared intestinal, está directamente relacionado al nivel de la actividad local. Por ejemplo, durante la absorción activa de nutrientes, el flujo de sangre en las vellosidades y las regiones adyacente de la submucosa se incrementa en más de ocho veces. De tal 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 regresando a sus niveles basales en 2 a 4 horas.

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:

a) Varias sustancias vasodilatadoras son liberadas desde la mucosa al tracto intestinal durante el proceso digestivo. La mayoría de ellos son hormonas, incluyendo colecistoquinina, péptido intestinal vasoactivo, gastrina y secretina. Estas mismas hormonas controlan las actividades motoras y secretoras específicas del intestino.

b) 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 poderosos vasodilatadores que se cree que causan la mayoría de la vasodilatación mucosa que ocurre a lo largo de la secreción intestinal.

c) **La disminución de la concentración de oxígeno** en la pared intestinal puede aumentar el flujo sanguíneo intestinal al menos un 50 a 100%. No obstante, el gasto metabólico de la mucosa y la pared intestinal durante la actividad intestinal, probablemente, disminuye la concentración de oxígeno lo suficiente para causar vasodilatación. La disminución del oxígeno también puede motivar un cuarto paso con el aumento en los niveles de adenosina, un bien conocido vasodilatador que puede ser responsable también de la vasodilatación intestinal.

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.

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, gran cantidad del oxígeno difunde fuera de las arteriolas directamente hacia las vénulas adyacentes sin ser transportado por la sangre hacia los extremos de la vellosidad. Incluso el 80% del oxígeno experimenta este cortocircuito y, por lo tanto, no está disponible para las funciones metabólicas locales de la vellosidad. Bajo condiciones normales, este shunt de oxígeno desde las arteriolas hacia las vénulas no es peligroso para la vellosidad, pero en condiciones de enfermedad 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 parte última o incluso la vellosidad completa puede sufrir una muerte isquémica y llegar

a desintegrarse. Por lo tanto, por esta razón y por otras, en muchas de las enfermedades gastrointestinales la vellosidad se encuentra seriamente en peligro con una capacidad de absorción severamente deprimida.

1. 1. 3 Recuerdo histológico del intestino delgado ^(7, 8,9)

El intestino delgado se compone de cuatro capas que de fuera a dentro son serosa, muscular, submucosa y mucosa ^(10,11).

1.1.3.1 Serosa

Constituye una prolongación de peritoneo que cubre completamente el yeyuno y el íleon y sólo la porción anterior del duodeno. Está formada por una fina capa de células mesoteliales que descansan sobre un soporte de tejido conjuntivo.

1.1.3.2 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.

1.1.3.3 Submucosa

Capa de tejido conjuntivo moderadamente denso con diversas estructuras en su interior:

- **Células:** linfocitos, células plasmáticas, eosinófilos y macrófagos.

- **Vasos venosos 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 denomina vaso quilífero central, y que finaliza, de forma ciega, en la proximidad de la punta de cada vellosidad.

- **Células ganglionares y fibras nerviosas** que 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.

1.1.3.4. Mucosa

Es la capa más interna, de mayor grosor y de mayor importancia funcional. En la mucosa se distinguen tres capas que de fuera a dentro son:

a) *Muscularis mucosae*

Capa fina de músculo liso que separa mucosa de submucosa. Está compuesta de dos capas, una circular interna y otra longitudinal externa. Desde la capa interna parten finos haces de células musculares lisas que forman un eje longitudinal en la parte central de la vellosidad.

b) *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, aumenta 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 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 va a tener una función defensiva como barrera mecánica a través de sus macrófagos y linfocitos y una función de soporte estructural del epitelio de la mucosa.

c) Epitelio

Cubre las criptas y las vellosidades. Está constituido 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.

- **El epitelio de las vellosidades** está formado por células absorptivas (enterocito), células caliciformes y algunas células endocrinas.
 - El **enterocito** es una célula 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 glicocáliz, 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.

- **El epitelio de las criptas** tiene cinco tipos de células, las células de Paneth, las células caliciformes, las células indiferenciadas, las células endocrinas y las células M.

- Las **células de Paneth** se encuentran en la base de las criptas. Producen material rico en proteínas sin que se conozca con exactitud el significado de su secreción. Parece ser que también tienen funciones fagocíticas.

- Las **células caliciformes** se sitúan en la pared lateral de las criptas y las vellosidades. Segregan moco a la luz intestinal.

- Las **células indiferenciadas o principales** se localizan en la mitad inferior de las criptas y darán origen a los enterocitos, las células caliciformes y las células endocrinas.

- Las **células endocrinas** van a segregar distintas sustancias con acción local o general. Hasta el momento se han identificado más de quince tipos distintos de estas células, que entre otras sustancias producen serotonina, bradiquinina, péptido intestinal vasoactivo, somatostatina, endorfina, bombesina, etc...

- **Células M** (*microfold cells*): enterocitos modificados que cubren grandes nódulos linfáticos en la lámina propia.

1.1.3.4.1 Reemplazo de la mucosa intestinal

Una de las funciones de las criptas es la multiplicación celular para la regeneración del epitelio de la mucosa. La mucosa del yeyuno presenta el ritmo más rápido de renovación celular de todos los tejidos del cuerpo ⁽¹²⁾. El epitelio intestinal se renueva por completo cada 3-6 días en el ser humano.

Multiplicación celular: 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 ⁽¹³⁾. El ciclo de división celular tarda 24 horas en el ser humano ^(10, 13). Las células destinadas a ser células *caliciformes* o *absortivas* sufren dos divisiones adicionales después de abandonar las células pluripotenciales. Las células *enteroendocrinas* también derivan de las células madre pluripotenciales pero sólo 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 absortivas* 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 absortiva 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 dura 2 días en la vellosidad ⁽¹³⁾.
- *Las células enteroendocrinas* van a ascender también hacia la vellosidad pero más despacio que las células caliciformes y absortivas.
- *Las células de Paneth* no migran. Permanecen en la base de las criptas. Tienen una vida media de 4 semanas.

1.1.3.4.2 Estructuras que aumentan la superficie de absorción de la mucosa.

Existen cuatro 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 íleon medio.
- **Vellosidades 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 estén 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:** van a contribuir también a aumentar la superficie de absorción. Cada célula posee varios miles de microvilli estrechamente dispuestos.

1.2 Modelo experimental: Recuerdo anatómico e histológico del intestino delgado de la rata.

1.2.1 Anatomía macroscópica del intestino delgado de la rata ⁽¹⁴⁾

El intestino delgado de la rata es seis veces más largo que el intestino grueso, el cual mide unos 15 cm. El diámetro del intestino delgado es aproximadamente de 0,4 cm., aumentando este grosor hasta casi el doble en el intestino grueso.

- **Duodeno de la rata**

El intestino se inicia con el duodeno a la salida del estómago y está fijo en la cavidad abdominal, y en estrecha relación con el páncreas. El duodeno atraviesa transversalmente hacia la pared abdominal derecha presentando dos curvaturas, una hacia el hígado y el riñón derecho y otra cranealmente, que constituye el duodeno ascendente.

- **Yeyuno de la rata**

El yeyuno es la parte más larga del intestino con un mesenterio de hasta 70 mm que hace que las asas se depositen plegadas en el abdomen.

- **Ileon de la rata**

El ileon es conectado al ápice del ciego mediante la plica ileocecal triangular: su apertura al ciego está íntimamente relacionada con el inicio del colon.

El intestino delgado desemboca en una gran bolsa elástica, el ciego, dividido en dos porciones, una apical donde se acumula gran cantidad de tejido linfoide y una parte distal poco diferenciada.

El ciego se localiza en la parte caudal izquierda abdominal pero su amplio mesenterio permite su localización en otros puntos. Del ciego parte el resto del colon hasta desembocar en el recto.

El colon tiene una longitud media de 15-20 cm., y está desprovisto de tenias musculares. El recto discurre como un tubo recto en la línea media hacia la pelvis y termina en el ano.

1.2.2. Anatomía de la circulación arterial y venosa del intestino de la rata. ^(14, 15)

a) Circulación arterial del intestino de la rata

El intestino de la rata está irrigado por 3 arterias principales que se originan de la vertiente ventral de la aorta abdominal. Estas son el tronco celiaco, la arteria mesentérica superior y la arteria mesentérica inferior.

- **Tronco celiaco.**

Nace en la cara ventral de la aorta y se ramifica en cuatro arterias que distribuyen la sangre por el hígado, el bazo, el estómago y el duodeno a través de ramas procedentes de las arterias gástrica, gastroduodenal, esplénica y hepática. Al nivel del duodeno se forman arcos anastomóticos pancreático-duodenales entre la rama gastroduodenal, la rama hepática, y la arteria mesentérica superior, constituyéndose así una vía de conexión entre estas arterias.

- **Arteria mesentérica superior**

Nace también en la cara ventral de la aorta abdominal, a una distancia de entre tres y cinco mm por debajo del tronco celiaco. Desde su origen, la arteria describe una trayectoria

descendente y hacia atrás, presentando un nacimiento oblicuo con respecto al eje central de la arteria aorta. Tras recorrer libre unos pocos mm, origina un número variable de arterias intestinales. La arteria mesentérica superior irriga el yeyuno, íleon, el ciego, el apéndice y dos tercios proximales del colon.

- **La mesentérica inferior**

Se origina en la parte anterior de la aorta abdominal, continuando posteriormente por el mesenterio a la fosa ilíaca izquierda, cruza la arteria iliaca izquierda y origina la arteria cólica izquierda y la arteria rectal. Es la responsable de irrigar la parte distal del colon y la parte proximal del recto.

- **Irrigación secundaria:**

La arteria mesentérica superior en su camino hacia posiciones dorsales, comienza a ramificarse en numerosas arterias secundarias, que son las responsables de llevar la sangre a las paredes del intestino. Se divide en 5 ramas:

- arteria cólica media,
- arteria pancreaticoduodenal caudal,
- arteria cólica derecha,
- arterias yeyunales
- arteria ileocecólica que a su vez da tres ramas:
 - arteria *colicus*,
 - arteria *ilei*
 - arteria *cecalis*.

Cada una de estas ramas del tronco principal sigue una dirección recta y hacia delante, y transcurridos unos pocos centímetros van a dividirse nuevamente dando lugar a la formación de las arcadas primarias. De estas arcadas principales vuelven a surgir unas arterias intestinales de menor calibre, recorren libres unos pocos milímetros y vuelven a

confluir unas con otras, formando las arcadas secundarias. Este patrón se repite varias veces, formándose cada vez arterias de menor calibre. A partir de la última arcada surgen los vasos rectos -vasa recti-, responsables de que la sangre alcance las paredes intestinales.

A lo largo de todo el aparato vascular intestinal, existe una estrecha comunicación entre los tres troncos principales que aportan sangre al tubo digestivo pero, a pesar de todos estos sistemas que permiten mantener la irrigación ante un proceso oclusivo, existen áreas de mayor vulnerabilidad.

- Aquellas cuya **irrigación depende de las colaterales** de las arterias adyacentes; como el ángulo esplénico del colon, donde las ramas de la arteria mesentérica superior se anastomosan con la mesentérica inferior, y la región intermedia del recto, que corresponde al lugar donde la mesentérica inferior se une con la hipogástrica.
- las áreas donde la **irrigación es terminal**, que son las correspondientes a las arterias rectas.

Además, existen intercomunicaciones en la microcirculación intestinal, con la formación de plexos vasculares que se localizan en la subserosa, en la muscular y, sobre todo, en la submucosa. A partir de estos plexos, las arteriolas pierden su capa muscular, originándose finas arborizaciones capilares, que forman anastomosis arteriovenosas, y originan redes de capilares que rodean a las criptas de Lieberkühn. Otras van destinadas a las vellosidades, de modo que cada una de éstas recibe una o varias ramas arteriales. Estos vasos penetran en la vellosidad a través de la base y se ramifican intensamente por debajo del epitelio de revestimiento superficial, siendo más abundantes en el intestino delgado.

En cuadros de una insuficiencia momentánea en el aporte de sangre por parte de una de las grandes arterias, los otros dos troncos principales juegan un papel clave en el mantenimiento del riego sanguíneo, pero en episodios más prolongados, esta colaboración se hace insuficiente y aparecen toda una serie de trastornos patológicos.

b) Circulación venosa del intestino de la rata.

La vena mesentérica superior vierte su contenido a la vena porta, al igual que las venas esplénicas y la mesentérica inferior, siendo la encargada de la circulación del retomo venoso. La circulación colateral mesentérica en la rata es análoga a la del hombre.

1.2.3 Histología del intestino de la rata. ^(16, 17)

El intestino de la rata está constituido por cuatro capas concéntricas que de fuera hacia dentro son serosa, muscular, submucosa y mucosa.

- **Serosa.**

Está constituida por una lámina continua de células mesoteliales planas, separada de la muscular adyacente por una fina capa de tejido conjuntivo laxo.

- **Muscular.**

Constituye una túnica muscular del intestino delgado formada por una capa externa longitudinal y otra interna circular, ambas formadas de músculo liso. Entre ambas capas se sitúa el plexo nervioso mientérico o de Auerbach. Esta capa es responsable del peristaltismo intestinal.

- **Submucosa.**

Está formado por tejido conjuntivo moderadamente denso y muy rico en fibras elásticas.

- **Mucosa.**

- Vellosidades

La mucosa presenta un incalculable número de vellosidades, esto es, prolongaciones digitiformes de la misma. Hacia el ileon, las vellosidades decrecen en número y tamaño. La relación cripta/vellosidad disminuye desde 27, en el duodeno, a 10 en el íleon terminal. En el yeyuno, las vellosidades tienen una disposición longitudinal, al contrario del duodeno, que las tiene perpendiculares al eje axial.

Las vellosidades intestinales contienen un vaso linfático axial que discurre entre las criptas de Lieberkühn hacia la red linfática de la submucosa, ramas arteriales paraaxiales que en el ápice de la vellosidad se dividen en una red de capilares que forman la red capilar subepitelial y dos o tres venas que discurren por la periferia de la vellosidad y que drenan en el plexo venoso de la base, que a su vez comunica con el plexo venoso de la submucosa.

- Epitelio

La superficie mucosa está recubierta por un epitelio cilíndrico, simple, con predominio de enterocitos, con borde en cepillo. La zona de membrana plasmática sobre la que se apoyan las células está estrechamente unida a la membrana basal continua.

- Lamina propia

La lámina propia de la mucosa intestinal está formada por un tejido areolar laxo y forma el eje de las vellosidades intestinales.

Contiene muchas células libres incluidas en un estroma de fibras. La lámina propia y la submucosa contienen los nódulos linfáticos, de diámetro variable y distribuidos a lo largo de todo el intestino. Los nódulos linfáticos agrupados se conocen con el nombre de placas de Peyer.

- Muscular de la mucosa

La muscular de la mucosa -muscularis mucosae- está formada por finas redes de fibras elásticas y por dos capas, una circular y otra longitudinal, de músculo liso.

➤ **Reemplazo de la mucosa intestinal**

Las criptas son las responsables de la regeneración del epitelio de la mucosa. El tiempo celular de tránsito desde la cripta al final de la vellosidad es 48 horas

El revestimiento epitelial del intestino está renovándose de manera continua y es el que más rápido prolifera de todos los tejidos del cuerpo en la rata. En el adulto, el ciclo de división de las células epiteliales de la cripta intestinal tarda entre 10 y 14 horas.

1.3 Isquemia mesentérica ^(18,19)

La isquemia mesentérica consiste en la reducción del flujo sanguíneo en las áreas donde la sangre se suministra por la circulación esplácnica, principalmente el intestino delgado y el colon, y causa lesión celular por falta de oxígeno y nutrientes.

La clasificación de la isquemia mesentérica se hace clásicamente por:

- El tiempo: La isquemia de instauración rápida o isquemia mesentérica aguda y la de instauración lenta o isquemia mesentérica crónica
- La localización: se distingue entre la que afecta a intestino delgado y al colon
- Por los vasos implicados: de arteria, arteriola, venas o vénulas.

1.3.1 Fisiopatología de la isquemia mesentérica ^(18, 19, 20,21)

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 periodo de tiempo, se produce una lesión. El flujo oscila en una media de 1500 a 1800 ml por minuto, con amplias variaciones como respuesta a las comidas o al ejercicio.

El intestino puede soportar un 75% de disminución del flujo durante 12 horas sin lesiones intestinales significativas. En condiciones normales, solo el 20% de los capilares están abiertos y se abren progresivamente cuando el aporte de oxígeno es insuficiente. El intestino recibe el 20% del flujo cardiaco; durante la digestión, el 35% y, de este, el 70% alimenta la mucosa, que es la estructura mas sensible a la isquemia.

El flujo sanguíneo del intestino esta regulado por:

- el sistema nervioso simpático
- los factores humorales
- los vasoconstrictores como la angiotensina II y la vasopresina
- los vasodilatadores, como la hiperkalemia, la hiperosmolaridad, el dióxido de carbono elevado y la disminución de la tensión de oxígeno
- los factores locales, como las prostaglandinas y los leucotrienos, que son vasoconstrictores espláncnicos.

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 en las mismas. 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.

Tras un periodo 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 absortiva de las vellosidades intestinales, que son la estructura más sensible a la hipoxia, en la pared intestinal. Esta perdida favorece la hipoperfusión. Se produce un edema de la pared intestinal y una alteración de la transferencia de líquidos, que se acumulan en la cavidad peritoneal. Todo esto acentúa la hipoxia tisular y desencadena la acidosis láctica.

La invasión bacteriana no ocurre hasta pasadas 24 horas, a expensas de las bacterias anaerobias y en detrimento de las aerobias. La

bacteriemia afecta inicialmente al territorio portal y no aparecen cultivos sistémicos positivos hasta las 48 horas, antes de que se produzca la perforación intestinal, que dispara la contaminación bacteriana.

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 los casos mas subagudos y reversibles, se aprecia necrosis no transmural (necrosis mucosa, edema de la submucosa, hemorragia y ulceración) cuya curación espontánea puede producirse sin secuelas o resultar en fibrosis y estenosis. En los casos de infarto intestinal, gangrena o perforación, las lesiones son irreversibles y precisan resección intestinal. Estas últimas son mas frecuentes en la isquemia mesentérica aguda y en la isquemia del colon.

1.3.2 Epidemiología y etiología ^(18,21)

La isquemia mesentérica aguda ocurre en aproximadamente el 0.1% de las admisiones hospitalarias. Sin embargo, su frecuencia aumenta progresivamente, ligada al envejecimiento de la población y a la mayor supervivencia de pacientes con graves enfermedades cardiovasculares. Los casos de isquemia aguda se detectan con una frecuencia cinco veces superior a los transtornos crónicos.

Se estima que la enfermedad mesentérica crónica está presente en el 18% de los pacientes mayores de 65 años y en el 70% de los que se someten a bypass aortofemoral.

La mortalidad total de la isquemia aguda permanece 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.

Los factores de riesgo cardiovascular son los que se implican con más frecuencia en la etiología de la isquemia mesentérica crónica. Las causas de la isquemia mesentérica aguda (Tabla 1) mas frecuentes son:

- Embolia de arteria mesentérica superior: 33 al 50%
- Isquemia mesentérica no oclusiva: 25%
- Trombosis de arteria mesentérica superior: 10%
- Trombosis venosa mesentérica: 10%
- Isquemia mesentérica focal: 5%

OCCLUSION ARTERIAL
Embolismo arterial Trombosis arterial Disección o traumatismo arterial Síndrome de compresión del tronco celiaco Embolismo tumoral Fibrosis retroperitoneal Enfermedades del tejido conectivo Coagulación intravascular diseminada Enfermedad de Takayasu
TROMBOSIS VENOSA MESENERICA
Primaria Situaciones de hipercoagulabilidad <ul style="list-style-type: none"> • Coagulopatías • Procesos tumorales • Policitemia • Deshidratación Hipertensión portal, Síndrome de Budd-Chiari Insuficiencia cardíaca congestiva
NO OCLUSIVA
Shock hipovolémico Fallo cardíaco agudo grave Consumo de tóxicos <ul style="list-style-type: none"> • Ergotamina • Cocaína • Digoxina Síndrome postcoartectomía

Tabla 1. Etiología de la isquemia mesentérica aguda. ⁽²¹⁾

1.3.3 Cuadros clínicos de isquemia mesentérica aguda

1.3.3.1 Embolia arterial ^(18,21)

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

La embolia de la arteria mesentérica superior constituye entre el 33 y el 50% de los casos de isquemia mesentérica aguda y su origen principal es la fibrilación auricular. El diagnóstico y tratamiento precoces permiten su resolución.

a) Clínica

Aparece dolor abdominal, de instauración brusca y localización variable, pero de suficiente intensidad como para reclamar atención médica urgente. En la mayoría de los casos, el intenso dolor abdominal no se acompaña a la exploración de signos de irritación peritoneal. La clínica de la isquemia mesentérica aguda suele describirse como el “dolor abdominal grave que no se corresponde con la exploración física”.

b) Diagnóstico ⁽²²⁾

El diagnóstico precoz de la isquemia mesentérica aguda exige un elevado índice de sospecha clínica. La presencia de patologías embolígenas asociadas al dolor abdominal intenso de inicio brusco sugiere la presencia de un cuadro isquémico mesentérico de origen embólico.

La angiografía se considera prescindible cuando el origen embólico parece claro o su realización va a retrasar, en exceso, el tratamiento quirúrgico.

La TAC precoz 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%. Además permite descartar otras patologías abdominales como causantes de la sintomatología.

c) Tratamiento ^(18, 21, 23,24)

Inicialmente debe establecerse 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. Se deben administrar antibióticos de amplio espectro de manera profiláctica. El tratamiento de estos pacientes es quirúrgico. Solo una pequeña fracción de pacientes con oclusión parcial de la arteria mesentérica superior puede tratarse de manera endovascular, con perfusión percutánea de trombolíticos y papaverina y seguimiento mediante arteriografías seriadas.

El tratamiento quirúrgico consiste en embolectomía para restablecer el flujo mesentérico y minimizar el daño intestinal. Se deberá buscar la arteria mesentérica superior en el origen del mesenterio, levantando el colon transverso. Se palpa la arteria hasta localizar el sitio donde desaparece el pulso. Distalmente al sitio de obstrucción se realiza una arteriotomía transversa y se inserta un catéter de embolectomía terminado en globo para extraer el émbolo. Se debe introducir el catéter también en sentido distal para extraer posibles trozos del émbolo fragmentados. Finalmente se cierra la arteriotomía con sutura fina continua de monofilamento.

Tras el restablecimiento del flujo se inspecciona la arteria mesentérica superior en toda su longitud para demostrar la presencia de pulsos y se valora la viabilidad intestinal tras la revascularización. Hay que

esperar entre 15 y 30 minutos antes de proceder a la resección de las 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, lo que liberaliza el empleo del “second look” en los pacientes en que existe duda en la afectación de las áreas del intestino respetadas. Los bordes dudosos del intestino pueden anastomosarse, dejarse cerrados o extraerse como doble ostomía, según las zonas y la situación general del paciente.

1.3.3.2 Trombosis arterial ^(18,21)

Se trata de una patología con una elevada mortalidad, que llega a alcanzar el 90% de los casos.

En la trombosis de la arteria mesentérica superior el comienzo puede ser más insidioso y llaman la atención los signos de hipovolemia y shock. Se cifra entre el 5 y el 50% de los casos de isquemia mesentérica aguda. La presencia de arteriosclerosis en otros territorios o de factores de riesgo cardiovascular puede hacernos sospechar la trombosis arterial aguda.

a) Clínica

El cuadro clínico se diferencia de la embolia arterial porque el dolor puede ser de comienzo más gradual, se asocia a distensión abdominal y signos de deshidratación. Son más frecuentes las náuseas, vómitos y diarrea con sangre macroscópica y microscópicamente visible. Es frecuente la historia previa de insuficiencia crónica intestinal.

b) Diagnóstico⁽²²⁾

La arteriografía o el angio-TAC 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.

c) Tratamiento^(18,21,23,24)

El tratamiento consiste en las medidas generales iniciales de reanimación. El tratamiento también es quirúrgico. La mayoría de los autores prefieren la realización de una derivación arterial al empleo de la trombectomía simple asociada a la angioplastia con parche de la región estenótica. En cuanto al material utilizado para la derivación, se prefieren los materiales sintéticos, puesto que disminuyen el riesgo de acodamientos, y se reserva la utilización de injertos venosos para los casos en los que el campo está contaminado.

1.3.3.3 Isquemia mesentérica aguda no oclusiva^(18,21)

Entre el 10 y el 20% de las isquemias mesentéricas agudas ocurren sin que exista una oclusión orgánica de los grandes vasos arteriales o venosos, lo que provoca la isquemia mesentérica aguda no oclusiva.

Este tipo de isquemia tiene una elevada morbimortalidad, con una mortalidad de entre el 70 y el 100%, por tratarse de pacientes críticos desde el momento inicial.

Aunque el espasmo arterial se produce generalmente como consecuencia del shock y estados de hipoperfusión, se han descrito situaciones de isquemia arterial 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.

La vasoconstricción del territorio mesentérico como consecuencia de los estados de shock, tanto hipovolémicos como normovolémicos ocurre de forma habitual y puede persistir después de revertir ese estado, por aumento de actividad del sistema nervioso simpático. La vasodilatación reactiva que tiene lugar tras la vasoconstricción no se produce en estos pacientes y se piensa que es debido a que no se consigue una presión de perfusión normal.

También el tratamiento con fármacos vasoactivos en los estados de shock puede contribuir al mantenimiento de la vasoconstricción esplácnica. En los casos de insuficiencia cardíaca crónica, el frecuente empleo de fármacos digitálicos produce una respuesta espástica excesiva de la circulación mesentérica, puesto que aumentan la presión portal y, por lo tanto, la resistencia del territorio vascular mesentérico.

a) Clínica

La presentación clínica es dolor abdominal, pero su presencia no se detecta en la mayoría de las ocasiones porque son pacientes críticos.

b) Diagnóstico⁽²²⁾

La angiografía aórtica y mesentérica son el mejor método diagnóstico disponible. La visualización angiográfica del afinamiento 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.

c) Tratamiento^(18,21,23,24)

La mejora de la perfusión intestinal en el manejo de la isquemia mesentérica aguda no oclusiva depende del tratamiento médico. En primer lugar, se debe controlar el estado de hipoperfusión sistémica a la vez que se realiza el tratamiento de la patología desencadenante. El tratamiento propuesto por *Boley* hace 25 años sigue siendo el que presenta mejores tasas de supervivencia. Consiste en una perfusión continua de papaverina intraarterial de 30 a 60 mg/hora, desde el momento del diagnóstico arteriográfico. Si no existe o remite el peritonismo en 30 minutos, se mantiene la perfusión y se repite la arteriografía a las 24 horas; se suspende la perfusión de papaverina si ha desaparecido el vasoespasmo y si persiste, se mantiene hasta un máximo

de 5 días. El papel del tratamiento quirúrgico es la isquemia no oclusiva se limita a la identificación y resección del intestino no viable.

1.3.3.4 Trombosis venosa. ^(18,21)

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 el 50%. Los vasos afectados con más frecuencia son: vena mesentérica superior (70.6%), vena esplénica (35.3%) y vena porta (32.8%).

La trombosis mesentérica extensa compromete el drenaje sanguíneo intestinal, condicionando un secuestro de fluidos que provoca situaciones de hipovolemia y hemoconcentración. Debido al éstasis venoso, 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 los fenómenos de vasoconstricción. Esta situación conduce a los infartos intestinales hemorrágicos.

a) Clínica

La clínica de estos pacientes es dolor abdominal cólico, anorexia y diarrea, ocasionalmente con sangre. La sintomatología puede extenderse entre una a cuatro semanas en relación con la extensión del proceso trombótico.

b) Diagnóstico ⁽²²⁾

La TAC helicoidal con contraste es en el momento actual el “gold standard” en el diagnóstico de la trombosis venosa. El hallazgo principal de la TAC 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. La angiorresonancia magnética nuclear con gadolinio aporta las mismas ventajas en el diagnóstico de la trombosis venosa que la TAC, pero es más costosa y requiere más tiempo de exploración.

c) Tratamiento^(18,21,23,24)

El tratamiento inicial es médico y se reserva la cirugía para los casos con sospecha de necrosis intestinal o peritonitis. En primer lugar, se debe establecer el soporte hemodinámico y corregir la hemoconcentración, la acidosis metabólica y los factores desencadenantes, si es posible. Además, se debe instaurar cobertura antibiótica de amplio espectro y descompresión con sonda nasogástrica.

El tratamiento principal es la anticoagulación y se debe de mantener de forma indefinida porque el riesgo de recurrencia es del 36%. La cirugía no es imprescindible en el tratamiento de la trombosis venosa, reservándose para aquellos casos en los que sea necesaria la resección intestinal por necrosis, o en los que los signos de irritación peritoneal o deterioro hemodinámico obliguen, al menos, a la valoración de su viabilidad.

1.3.4 El síndrome de isquemia - reperfusión

1.3.4.1. Concepto

En los últimos años numerosos trabajos han demostrado que la revascularización del tejido isquémico es un factor importante en la producción de lesiones.

Se ha comprobado que el aporte sanguíneo a un tejido que ha sufrido un período de isquemia produce unas lesiones típicas, que aumentan la gravedad de las lesiones de la fase isquémica. Esto es lo

que se conoce como "lesión por reperfusión", "síndrome de isquemia-reperfusión" o "síndrome de isquemia-revascularización"⁽²⁵⁾.

Son muchas las situaciones en clínica en las que ocurren procesos de isquemia-reperfusión tisular y en las que la revascularización tendría importancia como agravante de las lesiones. Los procedimientos de trombolisis, embolectomías y angioplastia, la cirugía misma, el shock y las maniobras de resucitación cardiopulmonar y los procedimientos de trasplante de órganos son ejemplos de procesos de isquemia-reperfusión tisular.

El daño por isquemia va a afectar, sobre todo, al órgano en que se produce y su repercusión general dependerá de la función de dicho órgano. El daño por reperfusión va a producir, además de una acción local sobre el órgano que se trata, una acción general por liberación de distintas sustancias tóxicas a la circulación. Los mecanismos y mediadores del daño por reperfusión van a ser semejantes en todos los casos, independientemente del órgano en que se produzca.

De todos los órganos, el intestino es probablemente el más sensible a la isquemia-reperfusión. Está compuesto por células lábiles que son fácilmente dañables por episodios de isquemia. De tal manera, la reperfusión resulta en un mayor daño a la mucosa. 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⁽²⁶⁾. Sin embargo, en el año 2002 se demostró que la sensibilidad del enterocito depende de su estado de diferenciación⁽²⁷⁾. En el intestino se produce lesión por reperfusión desde el mismo momento en que se inicia ésta e incluso con isquemias muy breves, a partir de 15 minutos.

1.3.4.2 Localización de la lesión por reperfusión

En el síndrome de isquemia-reperfusión intestinal se producen lesiones tanto a nivel local (en el asa isquémica) como en órganos a distancia. Asimismo puede producirse un proceso general de sepsis con fallo orgánico múltiple.

1. Lesiones a nivel local

Los efectos sobre el asa isquémica son los más estudiados en todos los trabajos. Las lesiones típicas consisten en un aumento de la permeabilidad microvascular y una desintegración de la barrera mucosa. Son cambios mediados por factores locales y sólo aparecen en el asa isquémica ^(28, 29). Puede desembocar en una deficiente absorción de nutrientes ⁽³⁰⁾ o incluso en casos severos como en los que se produce infarto intestinal en un síndrome de intestino corto. ⁽³¹⁾

2. Lesiones en órganos a distancia

Durante la isquemia-reperfusión intestinal se produce un aumento de la permeabilidad intestinal ⁽³²⁾, sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado y alteración de la respuesta inmune ⁽³³⁾. Todo ello contribuye a una traslocación bacteriana, con la diseminación de bacterias a todo el organismo.

La reperfusión intestinal produce disfunción en varios órganos vitales lejanos al intestino. A nivel del músculo cardíaco produce disminución de la contractilidad miocárdica. En el pulmón se ha demostrado un incremento en la permeabilidad capilar y daño en las células endoteliales de los capilares alveolares ⁽³⁴⁾. También en el hígado se producen lesiones que dependen de la disminución de flujo a éste órgano que se produce durante la isquemia-reperfusión intestinal ⁽³⁵⁾.

3. Fallo orgánico múltiple

La isquemia – reperfusión intestinal motiva una producción de moléculas como el peróxido de hidrógeno, superóxido y citoquinas inflamatorias que provocan 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 ⁽³⁶⁾. Por tales razones, el intestino ha sido denominado el “motor del fallo multiorgánico” ⁽³⁷⁾. 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 ^(38, 39)

1.3.4.3 Mediadores de la isquemia-reperfusión intestinal.

a) Neutrófilos polimorfonucleares.

La emigración de los polimorfonucleares 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

Al inicio las selectinas endoteliales aumentan, interaccionando con los oligosacáridos de la superficie de los leucocitos. Esto provoca la

aproximación de los leucocitos a las quemoquinas, 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 del neutrófilo ⁽⁴⁰⁾.

Existe una creciente evidencia que involucra a los polimorfonucleares en la patofisiología del síndrome de isquemia – reperfusión intestinal. Estudios microscópicos de tejidos expuestos a isquemia – reperfusión intestinal revelan una respuesta inflamatoria aguda que se caracteriza por un incremento en la adhesión y migración de los polimorfonucleares en las vénulas postcapilares ⁽⁴¹⁾. Se puede cuantificar de manera indirecta la migración de los polimorfonucleares mediante la medición de la actividad de la mieloperoxidasa en el intestino delgado. Los polimorfonucleares pueden causar daños tisulares a través de varias vías, incluyendo la secreción de enzimas proteolíticas como elastasa de gránulos citoplásmicos ⁽⁴²⁾, el empeoramiento de la microcirculación y la extensión de la isquemia ⁽⁴³⁾, y además, son la fuente inicial de formación de radicales libres durante el síndrome de isquemia - reperfusión intestinal ⁽⁴⁴⁾.

b) Óxido nítrico (NO).

El papel del NO en el síndrome de isquemia – reperfusión intestinal 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 isquemia – reperfusión intestinal, en otros produce beneficios.

Existe una evidencia clara que juega 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 ⁽⁴⁵⁾.

La isoforma inducible del NO (iNOS), aumenta la apoptosis de las células de la mucosa ⁽⁴⁶⁾ 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 ⁽⁴⁷⁾. Por el contrario, NO tiene posibles efectos beneficiosos en el intestino como:

- neutralización 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
- inhibir la agregación plaquetaria ^(48,49).

Durante las fases tempranas de la reperfusión existe una limitación a la acumulación de NO y en ausencia de NO, el anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$) 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 A_2 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 polimorfonucleares ⁽⁵⁰⁾.

c) Xantina oxidasa y radicales libres de oxígeno.

Durante el periodo isquémico, el ATP intracelular es catabolizado a hipoxantina. 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, la cual forma xantina oxidasa a partir de xantina deshidrogenasa, la que a su vez, durante el periodo 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 ⁽⁵¹⁾ (Figura 1).

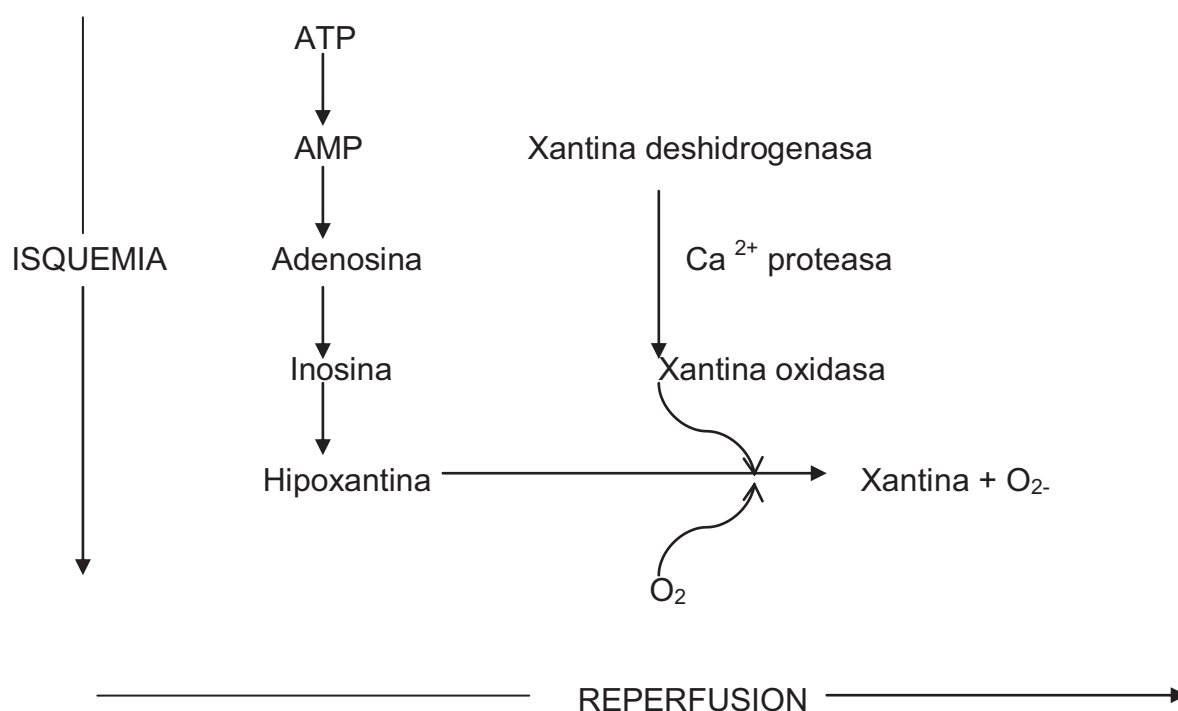


Figura 1: Mecanismo de la producción de radicales libres de oxígeno mediada por xantina oxidasa ⁽⁵²⁾.

En condiciones fisiológicas el O_2^- es neutralizado por la superóxido dismutasa que lo convierte en H_2O_2 , pero durante el periodo de reperfusión esta reacción está sobresaturada⁽⁵¹⁾.

En comparación con otros tejidos, la mucosa intestinal tiene una tremenda capacidad de oxidar xantina vía xantina oxidasa. La actividad oxidativa de la xantina intestinal se encuentra casi exclusivamente en la capa mucosa, con un incremento de gradiente de su actividad desde la base de la vellosidad a su extremo. Se ha demostrado un gradiente similar para la vulnerabilidad a la isquemia-reperfusión⁽⁵³⁾.

d) Proteínas proinflamatorias.

Existe cierta evidencia que la isquemia – reperfusión intestinal es un factor envuelto en la síntesis de proteínas proinflamatorias como

- el factor nuclear kappa-B (NF-KB), 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*)⁽⁵⁴⁾
- factores de necrosis tumoral como TNF- α ó TNF- β
- interleucinas
- quemoquinas
- enzimas como la ciclooxigenasa-2⁽⁵⁵⁾

Las quemoquinas con citoquinas quimotácticas 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⁽⁵⁶⁾.

e) Proteínas “heat shock”.

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⁽⁵⁷⁾. De tal forma, la inducción de la *hsp*-73 disminuye los niveles en plasma de IL-8 y TNF α durante el periodo de isquemia-reperusión intestinal en la rata⁽⁵⁸⁾.

f) Endotelinas.

Son pépticos vasoconstrictores derivados del endotelio vascular. Los antagonistas de los receptores de las endotelinas inducen una protección significativa contra la isquemia – reperusión intestinal, siendo sus máximos beneficios:

- disminución en las lesiones de la mucosa
- incremento en el flujo sanguíneo
- incremento en el ATP de la mucosa
- disminución de la adhesión leucocitaria⁽⁵⁹⁻⁶¹⁾

g) Complemento.

Varios estudios han sugerido que el sistema del complemento es un candidato mayor en la patogénesis de la isquemia – reperusión intestinal⁽⁶²⁻⁶⁴⁾. Su activación provoca una serie de eventos inflamatorios potentes, incluyendo la expresión del gen ICAM-1 y la sobreexpresión de citoquinas como el TNF- α e interleucinas⁽⁶⁴⁾.

h) Heme oxigenasa.

Posee cuatro efectos beneficiosos:

- función antioxidante
- mantenimiento de la microcirculación
- citoprotección
- función antiinflamatoria ^(65, 66)

i) 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 (como transferrina y ferritina), resultando un incremento del hierro libre intracelular, lo que a su vez acelera la formación de radicales libres ⁽⁶⁷⁾ (Figura 2).



Figura 2: Reacción de Haber-Weiss ⁽⁶⁷⁾.

1.4 Modelos experimentales de isquemia intestinal.

1.4.1 Animales de experimentación utilizados en modelos de isquemia.

Como animales de experimentación para el estudio de la fisiopatología de la isquemia-reperfusión intestinal se han utilizado: perros ^(68, 69, 70), cerdos ⁽⁷¹⁾, conejos ^(72, 73, 74), gatos ^(75, 76), ratas ^(77, 78, 79, 80), etc.

El método empleado para conseguir un modelo de isquemia mesentérica en los diferentes animales era muy similar. Con la intención de disminuir el flujo mesentérico se puede recurrir a multitud de sistemas:

- Pasar un hilo en forma de asa de la que después se tracciona desde el exterior ^(81, 82)
- Inocular bacterias o endotoxina bacteriana ⁽⁸³⁾
- Producir un shock cardiogénico con un taponamiento pericárdico ⁽⁸⁴⁾ o hemorrágico con exanguinación ⁽⁸⁵⁾
- Seccionar el pedículo vascular que posteriormente se anastomosará ⁽⁸⁶⁾
- Colocación de un clamp microvascular sobre un tronco o rama arterial, que puede disponer de un sistema de regulación ajustable en algunos ^(79, 87, 88, 89).

La rata es el animal de experimentación más empleados dada la facilidad de su manejo, costo y posibilidad de conseguir una muestra homogénea. Se puede tomar como modelo de isquemia intestinal un segmento o la totalidad del intestino delgado. Ambos presentan

particularidades topográficas, anatómicas y fisiológicas que justifican la pluralidad de protocolos existentes con un mismo objetivo: instaurar un déficit reversible de flujo sanguíneo.

1.4.2 Modelo de isquemia intestinal en la rata.

El modelo de isquemia intestinal en la rata se establece, en la mayoría de los estudios, siguiendo los pasos descritos a continuación:

1. **Anestesia.** Existen diferentes pautas anestésicas empleadas en los modelos de isquemia-reperfusión intestinal en la rata:
 - Ketamina (50-90 mg/kg) más xilacina (10-15 mg/kg) por vía intraperitoneal o intramuscular ^(90, 91)
 - Tiopental sódico intraperitonealmente (60 mg/kg) ⁽⁸²⁾
 - Pentobarbital (40 mg/kg) intraperitonealmente ⁽⁹²⁾
 - Diazepam, 5 mg/ml., atropina, 1 mg/ml, ketamina, 50 mg/ml. La proporción de volumen de la mezcla es: 10% de sulfato de atropina, 50% de ketamina y 40% de diazepam, por vía intramuscular ⁽⁸⁰⁾
 - Clorhidrato de ketamina (Ketolar®), administrada por vía intraperitoneal, a una dosis de 60 mg/kg y mantenidos con administraciones periódicas intraperitoneales ⁽⁹³⁾

2. **Técnica quirúrgica.** ^(90, 91, 92, 93)
 - Inmovilización del animal en decúbito supino mediante sujeción de las cuatro extremidades
 - Se rasura la superficie abdominal
 - Preparación de la piel con solución iodada
 - Incisión de laparotomía media

- El intestino delgado se retrae hacia la derecha
- Se disecciona arteria mesentérica superior
- Se coloca un clamp vascular atraumático en arteria mesentérica superior, durante el tiempo deseado de isquemia. En algunos estudios se realiza ligadura de arteria mesentérica superior con seda ⁽⁸²⁾
- Posteriormente se retira dicho clamp, durante el tiempo establecido de reperfusión.

1.4.3 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 y a la reperfusión.

A) 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 ⁽⁹⁴⁾. 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 ⁽⁹⁵⁾.

La necrosis isquémica del intestino delgado cumple las características del infarto hemorrágico ⁽⁹⁶⁾, que es aquel que se produce en tejido 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⁽⁹⁵⁾.

Chiu et al.⁽⁹⁴⁾ describieron los distintos grados de afectación de la mucosa tras la isquemia en función del tiempo. Park et al.⁽⁹⁵⁾, 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.⁽⁹⁷⁾ 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.⁽⁹⁸⁾, 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 periodo 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⁽⁹⁸⁾ (Tabla 2)

	Grosor medio de la mucosa (mm.)	Grosor medio 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'	0.22 + 0.03	0.14 + 0.03	38 %

Tabla 2: Efecto de la isquemia e isquemia-reperfusión sobre el grosor de la mucosa intestinal ⁽⁹⁸⁾.

- **Aspecto macroscópico.**

Durante unos breves instantes tras la oclusión vascular, el intestino aparece con un débil palidez transitoria ^(97, 99). 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 ⁽⁹⁹⁾. 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.

- **Aspecto microscópico.**

a) 15 minutos de isquemia.

El intestino conserva todavía un aspecto histológico casi normal. En el vértice de las vellosidades aparece algo

de separación entre el epitelio y el estroma (espacio de Grünhagen). Entre ambos, se ven unas pequeñas burbujas de aspecto claro, que en algunas vellosidades, están pasando a la luz intestinal a través de aperturas entre las 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 epitelial aparezca delgada y elongada, hasta que llega un momento en que el cúmulo de líquido hace que se despegue la célula epitelial y así se forma el espacio subepitelial. Esta fase correspondería **grado I de Chiu**.

b) 30 minutos de isquemia.

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 ⁽¹⁰⁰⁾. Además conservan sus 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 estasis 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**.

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. 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 ⁽¹⁰⁰⁾. 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 ⁽¹⁰¹⁾. 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 ⁽¹²⁾.

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, lesión de la pared de las criptas ⁽⁹⁴⁾.

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 sería la necrosis completa de la mucosa y el grado 8 correspondería al infarto transmural ⁽⁹⁵⁾.

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.

B) Lesiones debidas a la reperfusión.

El daño observado tras tres horas de isquemia y 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 severo que el daño producido por la isquemia *per se*. Este hecho implica alguna reacción iniciada por el retorno de sangre oxigenada al tejido isquémico como motivo del daño motivado por la reperfusión ⁽⁵³⁾.

El proceso de regeneración intestinal tras isquemia en ratas es rápido ⁽¹²⁾. En otros animales de experimentación como el gato, la reparación de las lesiones es más lenta ⁽⁹⁹⁾. 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 isquemia breves (30 minutos), a la 12 horas la

recuperación de la mucosa es casi completa⁽¹²⁾. 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 es a través de 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⁽⁹⁹⁾.

Wagner et al., 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 reperfusión, no justamente tras la isquemia (concepto de lesión por reperfusión). Cuanto menos tiempo dura la isquemia, antes aparece el pico de lesión máxima al iniciarse la reperfusión. Así Udassin et al. ⁽¹²⁾, para una isquemia de 30 minutos encuentran el momento de máxima lesión a los 10 minutos de iniciad la revascularización, mientras que Wagner et al. ⁽⁹⁷⁾, en una isquemia de dos horas, encuentran la máxima lesión al cabo de 1 hora de reperfusión. Sólo la parte inferior de las criptas permanece íntegra. Las vellosidades intestinales aparecen necróticas y en muchos casos desprendidas a la luz intestinal ⁽¹⁰⁰⁾. 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 polimorfonucleares en su luz y algunos emigrados al tejido conectivo adyacente.

b) 12 horas de reperfusión.

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 ^(94, 97, 99). 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 ⁽¹²⁾. 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 ⁽¹²⁾. 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.

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 periodo. 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 polimorfonucleares y macrófagos. Aparece la membrana basal que es discontinua y más gruesa de lo normal ⁽¹⁰⁰⁾. En este momento, Cameron et al. ⁽⁹⁹⁾, han encontrado dilatación de los linfáticos de la vellosidad con resto necróticos en su interior.

d) 3 días de reperfusión.

A los 3 días, la pared ya tiene un aspecto casi normal. 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 la 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.

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, aunque con una relación entre ambos ya 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 ^(97, 99).

1.5 Fármacos en isquemia- reperfusión intestinal

1.5.1 Modalidades terapéuticas en la Isquemia-reperfusión intestinal

Diversos tratamientos han sido utilizados con éxito para atenuar la lesión por isquemia-reperfusión intestinal en modelos de experimentación animal.

Las diferentes modalidades para superar el daño por isquemia-reperfusión son:

- Preacondicionamiento isquémico
- Antioxidantes
- Suplementos de óxido nítrico
- Terapia anticomplemento
- Terapia antileucocitaria
- Perfluorocarbonos
- Alimentación enteral
- Suplementos de glutamina
- Suplementos de glicina

1.5.1.1 Preacondicionamiento isquémico.

Fenómeno por el que los tejidos expuestos a cortos periodos de isquemia reciben una relativa protección ante una isquemia más prolongada ⁽¹⁰²⁾. Hotter et al. en 1996 ⁽¹⁰³⁾ fue el primero en describirlo a nivel intestinal. Todavía no se ha

establecido el tiempo de isquemia ni el número de ciclos necesarios para lograr su efecto.

Sus efectos se diferencian en dos fases:

- Fase precoz, temprana o preconditionamiento clásico: inmediato a la isquemia hasta las 2-3 horas. Modulación directa de funciones celulares específicas.
- Fase tardía o preconditionamiento tardío: comienza a las 12-24 horas y con 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⁽¹⁰⁴⁾.

1.5.1.2 Antioxidantes.

El cuerpo humano produce de forma endógena antioxidantes naturales, pero los cuales, no son capaces de conseguir una protección adecuada durante la isquemia-reperfusión intestinal. Poseen efectos de disminución del estrés oxidativo, la peroxidación lipídica, neutralización de radicales libres, anti-apoptosis, anticitoquinas, expresión de iNOS y de heme-oxigenasa, así como inhibición de TNF α ⁽¹⁰⁴⁾.

1.5.1.3 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 isquemia-reperfusión intestinal ^(104, 105, 106).

1.5.1.4 Terapia anti-leucocítica.

Existen tres grandes estrategias terapéuticas para el tratamiento del daño mediado por leucocitos durante la isquemia-reperfusión intestinal ⁽¹⁰⁴⁾.

1. Inhibición de la activación leucocitaria.

La activación de los leucocitos durante la isquemia-reperfusión intestinal se produce gracias a 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 ⁽¹⁰⁷⁾, antagonistas del PAF ^(108, 109) y del TNF α ⁽¹¹⁰⁾, disminuyen la activación leucocitaria durante la isquemia-reperfusión intestinal.

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 ⁽¹¹¹⁾, la dehidroximetilpoxiquinomicina ⁽¹¹²⁾, el FK506 ⁽¹¹³⁾, o el mesna ⁽¹¹⁴⁾.

3. Inhibición de la adhesión endotelial leucocitaria.

El empleo de alopurinol ^(115, 116) y de bloqueantes del receptor de endotelina ⁽⁶¹⁾, favorecen la recuperación tras la isquemia-reperfusión intestinal disminuyendo la adhesión leucocitaria.

1.5.1.5 Terapia anti-complemento.

La administración del antagonista del receptor del complemento C5a protege al intestino del daño de la isquemia-reperfusión intestinal, inhibe la expresión de TNF α y la infiltración de neutrófilos, tanto a nivel intestinal como pulmonar ^(63, 104, 117). El empleo intravenoso de un inhibidor del receptor soluble del complemento 1, reduce la permeabilidad vascular e incrementa la supervivencia ⁽¹¹⁸⁾. CRIg-Fc es un receptor del complemento, recientemente identificado, de la familia de las inmunoglobulinas expresado por macrófagos. Tiene la capacidad de inhibir la activación del complemento, mediante su unión a C3b, inhibiendo las convertasas C3 y C5 e la vía alternativa. Se ha demostrado que la administración de CRIg-Fc previene de la lesión tisular local y a distancia en la isquemia-reperfusión intestinal ⁽¹¹⁹⁾.

1.5.1.6 Nutrición enteral.

La nutrición enteral mantiene la inmunidad de la mucosa y la resistencia a las infecciones. Disminuye los niveles de IL-4 e IL-10, inhibiendo la expresión de ICAM-1, la cual provoca la atracción de neutrófilos polimorfonucleares ^(104, 120).

1.5.1.7 Suplementación de óxido nítrico (NO).

El empleo de donantes de NO como el (FK-409) ⁽¹²¹⁾ o incluso la administración intraluminal de NO, disminuyen el daño en la isquemia-reperfusión intestinal. El uso de inhibidores selectivos de iNOS (estrógeno ⁽¹²²⁾), o de preservadores de la eNOS (Rosuvastatina ⁽¹²³⁾), protegen a la mucosa intestinal, disminuyendo las citoquinas atrayentes de neutrófilos y los niveles de TNF α .

1.5.1.8 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 ⁽¹⁰⁴⁾.

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* ⁽¹²⁴⁻¹²⁶⁾. En administraciones intravenosas incrementa la heme-oxigenasa 1 y diversos antioxidantes, disminuyendo los niveles de TNF- α intestinales, además de la peroxidación lipídica de la membrana celular ^(127, 128, 129).

1.5.1.9 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 isquemia – reperfusión intestinal con funciones antiinflamatorias, inmunomoduladoras, de reducción de

la translocación bacteriana y la formación de radicales libres, así como de citoprotección ^(104, 130, 131, 132).

1.5.2 Amlodipino.

El amlodipino es una antagonista de los canales del calcio del grupo de las dihidropiridonas de tercera generación. La diferencia estructural con el nifedipino es la presencia de una base de aminoácidos de cadena lateral en posición 2 del anillo dihidropiridina (Figura 3). Como consecuencia, en pH fisiológico el grupo amino está ionizado y el compuesto es de carga positiva ⁽¹³³⁾

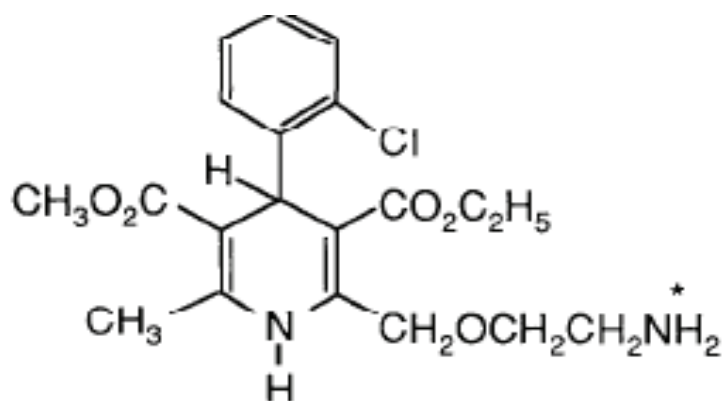


Figura 3. Estructura de amlodipino ⁽¹³³⁾

El amlodipino presenta actividad antioxidante y selectividad vascular. Además, inhibe la peroxidación lipídica, aumenta la cantidad de óxido nítrico (por una mayor formación del mismo y por prolongar su vida media), reduce la oxidación de lipoproteínas de baja densidad y preserva la actividad superóxido dismutasa. ⁽¹³⁴⁾

Varios estudios han demostrado que el amlodipino disminuye el daño tisular en modelos de isquemia reperusión de diferentes órganos:

a) Isquemia-reperfusión miocárdica ^(135, 136, 137)

- Reduce la demanda de oxígeno por el miocardio
- Mejora la vascularización coronaria
- Acelera tanto la recuperación de la función metabólica como la función mecánica miocárdica.
- Efecto protector sobre el miocardio

b) Isquemia-reperfusión hepática ⁽¹³⁸⁾

- Efectos citoprotector en los hepatocitos del parénquima
- Mejora de la microcirculación hepática
- Inhibición de la liberación de mediadores tóxicos.

c) Isquemia reperfusión cerebral ⁽¹³⁹⁾

- Actividad neuroprotectora muy potente, en comparación con otros antioxidantes y otros antagonistas del calcio (nifedipina y nimodipina).
- Inhibe el daño producido por los radicales libres a los constituyentes lipídicos de la membrana celular, de manera dosis dependiente.
- Inhibe significativamente la peroxidación lipídica en concentraciones muy bajas.
- Inhibe la muerte celular en los cultivos de neuronas de ratas hipertensas sometidas a isquemia-reperfusión
- Reducción en la peroxidación y la preservación de la superóxido dismutasa (SOD)

d) Isquemia-reperfusión ovárica ⁽¹⁴⁰⁾

- Reducción del tamaño del infarto ovárico después del mecanismo de isquemia-reperfusión.
- El descenso en la regulación de iNOS protege el tejido ovárico sometido a isquemia-reperfusión

En cuanto a la dosis de amlodipino administrada en modelos de isquemia- reperfusión en ratas:

➤ Isquemia-reperfusión miocárdica

- Se empleaban dosis de 0,25 mg/ kg de peso por vía intravenosa, 5 horas antes de la muerte del animal, realizándose previamente isquemias de 10, 30 y 60 minutos, respectivamente. El tratamiento con amlodipino ofrecía protección si la isquemia no superaba los 30 minutos, reduciendo el área de infarto miocárdico. ^(141, 142)

➤ Isquemia-reperfusión ovárica

- Se administraban dosis de 3 y 5 mg/ kg de peso de amlodipino media hora antes de la isquemia, por vía oral. También se administraba las mismas dosis a las dos horas y media de haber comenzado la isquemia. Se realizaban isquemia de tres horas y reperfusión de tres horas. Independientemente de la dosis, se observaba una disminución del daño tisular en los modelos de isquemia- reperfusión ovárica ⁽¹⁴⁰⁾.

1.5.2.1 Ficha técnica ⁽¹⁴³⁾

- **Composición cualitativa y cuantitativa**

Cada comprimido contiene como principio activo amlodipino (besilato) 5 mg o 10 mg. Excipientes: Celulosa microcristalina, fosfato cálcico dibásico anhidro, almidón glicolato sódico, estearato de magnesio

- **Forma farmacéutica**

Comprimidos.

- **Datos clínicos**

Indicaciones terapéuticas

Amlodipino está indicado como tratamiento de primera línea de la hipertensión y puede emplearse como medicamento único para controlar la presión arterial en la mayoría de los pacientes. Los enfermos no suficientemente controlados con un solo antihipertensivo pueden beneficiarse de la adición de amlodipino, el cual se ha empleado en asociación con diuréticos tiazídicos, alfabloqueantes, bloqueadores de los receptores beta-adrenérgicos o inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina.

Amlodipino está indicado como tratamiento de primera línea de la isquemia miocárdica bien sea debida a obstrucción fija (angina estable) y/o vasoespasmo/vasoconstricción (angina variante o de Prinzmetal) de la vasculatura coronaria. Amlodipino puede utilizarse cuando el cuadro clínico sugiera un posible componente vasoespástico/vasoconstrictor, aunque éste

aún no haya sido confirmado. Amlodipino puede emplearse sólo, como monoterapia, o asociado con otros antianginosos, en pacientes con angina refractaria a los nitratos y/o a las dosis adecuadas de betabloqueantes.

Posología y forma de administración

Tanto para la hipertensión como para la angina, la dosis inicial habitual es la de 5 mg de amlodipino, una vez al día, que puede aumentarse hasta un máximo de 10 mg, según la respuesta individual del paciente.

No es necesario el ajuste de la dosis de amlodipino cuando se administra simultáneamente con diuréticos tiazídicos, betabloqueantes o inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina.

Contraindicaciones

Amlodipino está contraindicado en los pacientes con:

- hipersensibilidad conocida a las dihidropiridinas, a amlodipino o a cualquiera de sus excipientes
- hipotensión grave
- shock (incluyendo shock cardiogénico)
- obstrucción del tracto de salida del ventrículo izquierdo (por ejemplo, estenosis aórtica grave)
- insuficiencia cardíaca hemodinámicamente inestable tras infarto agudo de miocardio

Interacción con otros medicamentos y otras formas de interacción

Amlodipino se ha administrado con seguridad junto con: diuréticos tiazídicos, alfabloqueantes, betabloqueantes, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina, nitratos de acción prolongada, nitroglicerina sublingual, antiinflamatorios no esteroideos, antibióticos e hipoglucemiantes orales. Datos "in vitro" procedentes de estudios con plasma humano, indican que amlodipino carece de efectos sobre la unión a las proteínas de los fármacos estudiados (digoxina, fenitoína, warfarina o indometacina). No se recomienda la administración de amlodipino con pomelo o zumo de pomelo debido a que puede aumentar su biodisponibilidad en algunos pacientes dando lugar a un aumento de su efecto antihipertensivo.

Estudios especiales: efecto de otros agentes sobre amlodipino.

- Inhibidores del citocromo CYP3A4: El uso concomitante con inhibidores del citocromo CYP3A4, eritromicina en pacientes jóvenes y diltiazem en pacientes ancianos, elevó las concentraciones plasmáticas de amlodipino en un 22% y 50 % respectivamente. No obstante, no se conoce la relevancia clínica de este hallazgo. No puede descartarse que potentes inhibidores del citocromo CYP3A4 (por ejemplo, ketoconazol, itraconazol, ritonavir) puedan aumentar las concentraciones plasmáticas de amlodipino en mayor grado que el diltiazem. Debe tenerse precaución cuando amlodipino se utiliza con inhibidores del citocromo CYP3A4. No

obstante, no se han notificado efectos adversos atribuibles a esta interacción.

- Inductores del citocromo CYP3A4: No se dispone de datos sobre el efecto de los inductores del citocromo CYP3A4 sobre amlodipino. El uso concomitante de inductores del citocromo CYP3A4 (por ejemplo, rifampicina, hierba de San Juan) puede producir una reducción en la concentración plasmática de amlodipino. Debe tenerse precaución cuando amlodipino se utiliza con inductores del citocromo CYP3A4.

En los estudios clínicos realizados con amlodipino no se ha comprobado cambios en los parámetros farmacocinéticos del mismo al administrarse conjuntamente con cimetidina, antiácidos (aluminio/magnesio).

- Sildenafil: Una dosis única de 100 mg de sildenafil en sujetos con hipertensión esencial no afectó a los parámetros farmacocinéticos de amlodipino. Cuando se usaron conjuntamente amlodipino y sildenafil, cada agente independientemente mostró sus propios efectos sobre el descenso de la presión arterial.

Estudios especiales: Efecto de Amlodipino sobre otros agentes.

El efecto hipotensor de amlodipino se suma a los efectos hipotensores de otros antihipertensivos.

- Atorvastatina: La administración conjunta de dosis múltiples de 10 mg de amlodipino con 80 mg de

atorvastatina no cambió significativamente los parámetros farmacocinéticos basales de atorvastatina.

- Digoxina: La administración conjunta de amlodipino con digoxina no cambió los niveles séricos de digoxina o el aclaramiento renal de Digoxina en voluntarios sanos.
- Etanol (Alcohol): Dosis únicas y múltiples de 10 mg de amlodipino no tuvieron un efecto significativo sobre las propiedades farmacocinéticas del etanol.
- Warfarina: La administración conjunta de amlodipino con warfarina no modificó el efecto de la warfarina sobre el tiempo de respuesta a la protrombina.
- Ciclosporina: estudios de farmacocinética con ciclosporina demuestran que amlodipino no modifica de forma significativa la farmacocinética de la ciclosporina.

Amlodipino no tiene efecto sobre los parámetros de laboratorio.

Reacciones adversas

Durante el tratamiento con amlodipino se han observado y notificado los siguientes efectos adversos con las siguientes frecuencias: muy frecuente ($\geq 1/10$), frecuente ($\geq 1/100$ a $< 1/10$), poco frecuente ($\geq 1/1.000$ a $\leq 1/100$); raros ($\geq 1/10.000$ a $\leq 1/1.000$); muy raros ($\leq 1/10.000$) (Tabla 3).

Clasificación por órgano y sistema	Frecuencia	Efectos adversos
Trastornos de la sangre y del sistema linfático	Muy raro	Leucopenia, trombocitopenia.
Trastornos del sistema Inmunológico.	Muy raro	Reacción alérgica
Trastornos del metabolismo y de la nutrición	Muy raro	Hiper glucemia
Trastornos psiquiátricos	Poco frecuente	Insomnio y cambios de humor (incluyendo ansiedad), depresión
	Raro	Confusión
Trastornos del sistema nervioso	Frecuente	Somnolencia, mareo, dolor de cabeza (especialmente al inicio del tratamiento)
	Poco frecuente	Temblor, disgeusia, síncope, hipoestesia, parestesia
	Muy raro	Hipertonía, neuropatía periférica
Trastornos oculares	Poco frecuente	Alteraciones visuales (incluyendo diplopia)
Trastornos del oído y del laberinto	Poco frecuente	Tinnitus
Trastornos cardíacos	Poco frecuente	Palpitaciones
	Muy raro	Infarto de miocardio arritmias (incluyendo bradicardia, taquicardia ventricular y fibrilación auricular)
Trastornos vasculares	Frecuente	Rubefacción
	Poco frecuente	Hipotensión
	Muy raro	Vasculitis
Trastornos respiratorios, torácicos y mediastínicos	Poco frecuente	Disnea, rinitis
	Muy raro	Tos

Trastornos gastrointestinales	Frecuente	Dolor abdominal, náuseas
	Poco frecuente	Vómitos, dispepsia, alteración del tránsito gastrointestinal (incluyendo diarrea y estreñimiento), sequedad de boca
	Muy raro	Pancreatitis, gastritis, hiperplasia gingival
Trastornos hepatobiliares	Muy raro	Hepatitis, ictericia, elevación de las enzimas hepáticas*
Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo	Poco frecuente	Alopecia, púrpura, cambio de coloración de la piel, hiperhidrosis, prurito, erupción, exantema
	Muy raro	Angioedema, eritema multiforme, urticaria, dermatitis exfoliativa, síndrome de Stevens Johnson, edema de Quincke, Fotosensibilidad
Trastornos musculoesqueléticos	Frecuente	Hinchazón de tobillos y del tejido conjuntivo
	Poco frecuente	Artralgia, mialgia, calambres musculares, dolor de espalda
Trastornos renales y urinarios	Poco frecuente	Trastornos de la micción, nicturia, aumento de la frecuencia urinaria
Trastornos del aparato reproductor y de la mama	Poco frecuente	Impotencia, ginecomastia.
Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	Frecuente	Edema, fatiga
	Poco frecuente	Dolor torácico, astenia, dolor, malestar general
Exploraciones complementarias	Poco frecuente	Aumento de peso, pérdida de peso

Tabla 3: Reacciones adversas del amlodipino.

* En su mayoría coincidiendo con colestasis

Sobredosis

La experiencia en sobredosis intencional en humanos es limitada.

Síntomas:

Los datos disponibles sugieren que una sobredosificación severa puede provocar una vasodilatación periférica excesiva y posiblemente taquicardia refleja. Se ha informado de hipotensión sistémica marcada y, probablemente, prolongada que puede llegar incluso al shock con un resultado fatal.

Tratamiento:

La hipotensión clínicamente importante, debida a la sobredosis de amlodipino, exige el apoyo cardiovascular activo, incluida la monitorización frecuente de las funciones cardíaca y respiratoria, la elevación de las extremidades y el control del volumen circulante y de la excreción de orina. La administración de medicamentos vasoconstrictores puede ser útil para restablecer el tono vascular y la presión arterial, siempre que su administración no esté contraindicada. La administración intravenosa de gluconato cálcico puede ser de utilidad para revertir los efectos del bloqueo de los canales del calcio. En algunos casos el lavado de estómago puede ser útil. La administración de carbón activado en voluntarios sanos, inmediatamente después o durante las dos horas siguientes a la ingestión de 10 mg de amlodipino, ha demostrado reducir de forma significativa la absorción de amlodipino.

Como amlodipino está altamente unido a las proteínas, no es probable que la diálisis aporte beneficio alguno.

- **Propiedades farmacológicas**

Propiedades farmacodinámicas

Amlodipino es un calcioantagonista (bloqueador de los canales lentos del calcio o antagonista de los iones calcio), que impide el paso de los iones calcio a través de la membrana al músculo liso vascular y cardíaco. La acción antihipertensiva de amlodipino es debida a un efecto relajador directo del músculo liso vascular.

El mecanismo exacto por el que amlodipino alivia la angina no se ha determinado plenamente, pero amlodipino reduce la carga isquémica total mediante las dos acciones siguientes:

1. Amlodipino dilata las arteriolas periféricas, reduciendo así la resistencia periférica total (poscarga), frente a la que trabaja el corazón. Como la frecuencia cardíaca permanece estable, se reduce el consumo de energía del miocardio, así como las necesidades de oxígeno del corazón.

2. El mecanismo de acción de amlodipino también probablemente implica la dilatación de las grandes arterias coronarias, así como de las arteriolas, tanto en las zonas normales, como en las isquémicas. Esta dilatación aumenta el aporte de oxígeno al miocardio en pacientes con espasmo de las arterias coronarias (angina variante o de Prinzmetal) y contrarresta la

vasoconstricción coronaria inducida por el tabaco. En los enfermos hipertensos, la administración de una vez al día logra reducciones clínicamente significativas de la presión arterial, tanto en posición supina como erecta, a lo largo de 24 horas. Debido a su lento inicio de acción, la hipotensión aguda no es una característica de la administración de amlodipino.

En pacientes con angina, la administración de Amlodipino una vez al día produce un incremento en el tiempo total de ejercicio, tiempo hasta la aparición de la angina y tiempo hasta que se produce una depresión de 1 mm del segmento ST y disminuye tanto la frecuencia de ataques de angina como el consumo de comprimidos de nitroglicerina.

Amlodipino no se ha relacionado con ningún efecto metabólico adverso ni con alteraciones de los lípidos plasmáticos y es adecuado para su administración a enfermos con asma, diabetes y gota.

Uso en pacientes con insuficiencia cardíaca:

Estudios hemodinámicos y ensayos clínicos controlados basados en pruebas de esfuerzo, en pacientes con insuficiencia cardíaca de clase II-IV de la NYHA, han mostrado que amlodipino no produjo deterioro clínico, determinado por la medición de la tolerancia al ejercicio, fracción de eyección ventricular izquierda y sintomatología clínica.

Un estudio controlado con placebo (PRAISE) diseñado para evaluar pacientes con insuficiencia cardíaca

de clases III-IV de la NYHA que recibían digoxina, diuréticos e inhibidores de la enzima convertora de la angiotensina (ECA) ha demostrado que amlodipino no produjo un incremento del riesgo de mortalidad o de morbilidad y mortalidad combinadas en pacientes con insuficiencia cardíaca.

En un siguiente estudio de seguimiento a largo plazo, controlado con placebo (PRAISE-2) de amlodipino en pacientes con insuficiencia cardíaca de clases III y IV de la NYHA sin síntomas clínicos o datos objetivos que sugiriesen una enfermedad isquémica subyacente, a dosis estables de inhibidores de ECA, digitálicos, y diuréticos, amlodipino no afectó a la mortalidad total o cardiovascular. En esta misma población amlodipino se asoció con un aumento de casos de edema pulmonar sin una diferencia significativa de la incidencia de empeoramiento de la insuficiencia cardíaca comparada con placebo. El efecto de amlodipino sobre la morbi-mortalidad cardiovascular se evaluó en el estudio ALLHAT (Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial), un ensayo clínico aleatorizado y doble ciego en el que se compararon amlodipino (2,5-10 mg/día) y lisinopril (10-40 mg/día) frente a clortalidona (12,5-25 mg/día de clortalidona) en pacientes hipertensos con al menos un factor de riesgo coronario. Se aleatorizó un total de 33.357 pacientes de 55 o más años que se siguieron durante una media de 4,9 años. La variable principal de eficacia fue una variable compuesta por enfermedad coronaria mortal o infarto de miocardio no mortal. Como variables secundarias se evaluaron la mortalidad por todas las causas, ictus, enfermedad coronaria combinada (compuesta por enfermedad coronaria mortal, infarto de miocardio no mortal, revascularización

coronaria, angina que requiere hospitalización) y enfermedad cardiovascular combinada (compuesta por enfermedad coronaria combinada, ictus, angina tratada sin hospitalización, insuficiencia cardiaca y enfermedad arterial periférica).

La incidencia de la variable primaria de eficacia (enfermedad coronaria mortal o infarto de miocardio no mortal) fue del 11,3% en el grupo de amlodipino y del 11,5% en el grupo de clortalidona, sin que la diferencia entre ambos grupos fuera estadísticamente significativa (RR 0,98 95% CI [0,90-1,07] p=0,65). No hubo diferencias significativas en la mortalidad por cualquier causa entre el tratamiento con amlodipino y con clortalidona (16,8% vs 17,3% RR 0,96 95% CI [0,89-1,02] p=0,20) ni en el resto de variables secundarias, excepto en dos componentes de las variables secundarias combinadas para las que la incidencia fue superior en el grupo tratado con amlodipino comparado con el grupo tratado con clortalidona: insuficiencia cardiaca (10,2% vs 7,7% RR 1,38 95% CI [1,25-1,52] p<0,001) e insuficiencia cardiaca mortal o que necesita hospitalización (8,4% vs 6,5% RR 1,35 95% CI [1,21 – 1,50] p< 0,001).

Propiedades farmacocinéticas

Absorción

Después de la administración oral de dosis terapéuticas, amlodipino se absorbe bien, alcanzando concentraciones máximas en la sangre a las 6-12 horas de la administración. La absorción de amlodipino no se modifica con la ingesta de alimentos. La biodisponibilidad

absoluta ha sido estimada entre el 64 y el 80%. El volumen de distribución es aproximadamente de 21 l/Kg.

En los estudios "in vitro" se ha demostrado que aproximadamente el 97,5% del amlodipino circulante está unido a las proteínas plasmáticas.

Biotransformación / Eliminación

La semivida plasmática de eliminación final es de unas 35-50 horas, y permite la administración una vez al día. Después de la administración continuada se alcanzan concentraciones plasmáticas estables a los 7- 8 días.

Amlodipino se metaboliza ampliamente en el hígado hasta metabolitos inactivos eliminándose por la orina hasta el 10% del fármaco inalterado y el 60% de los metabolitos.

Precauciones especiales de conservación

Mantener en lugar seco y preferentemente entre 15 y 30° C.

1.5.3. Cilostazol

El cilostazol es un inhibidor de la fosfodiesterasa tipo III. Su estructura molecular es 6 – [4-(1-ciclohexil-1 H-tetrazol-5-yl) butoxi]- 3,4-dihidro-2 (1H)-quinolinone (Figura 4).⁽¹⁴⁴⁾

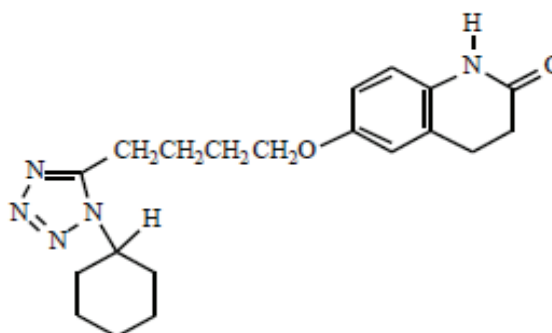


Figura 4. Estructura de cilostazol⁽¹⁴⁵⁾

El cilostazol, a través de su acción inhibitoria sobre la fosfodiesterasa tipo III, aumenta los niveles de AMP cíclico intracelular, lo cual conlleva a la inhibición de la agregación plaquetaria, cambios en la forma de las plaquetas y formación de trombos.

Los efectos vasculares del cilostazol son los siguientes:

- **Efectos sobre el endotelio.**⁽¹⁴⁶⁾

Se han realizado varios estudios evaluando los efectos del cilostazol sobre la vasodilatación de la aorta de ratas. Se concluye que el cilostazol induce vasodilatación, dependiente del óxido nítrico del endotelio.

- **Efectos antiproliferativos**^(147, 148)

La administración de cilostazol disminuye la proliferación de las células de la capa íntima y media de las arterias.

- **Efectos antiplaquetarios**^(149, 150, 151, 152)

Desde 1985 se han realizado diversos estudios que confirman la acción del cilostazol como antiagregante plaquetario. Esa acción se mantiene tanto en presencia como en ausencia de células endoteliales, aunque la existencia de células endoteliales potencian los efectos del cilostazol como antiagregante plaquetario.

- **Efectos del cilostazol sobre los niveles de lípidos séricos.**⁽¹⁵³⁾

El cilostazol disminuye los triglicéridos y aumenta las lipoproteínas de alta densidad, efecto que parece ser mediado por aumento de la lipoproteína lipasa plasmática.

- **Tratamiento de la enfermedad arterial periférica**^(154, 155, 156)

El cilostazol está indicado en el tratamiento de dicha patología. En la mayoría de los estudios realizados, se demuestra un aumento de la distancia caminando libre de claudicación. También mejora la calidad de vida, la capacidad funcional, el índice tobillo-brazo. Las razones que justifican los efectos beneficiosos del cilostazol en pacientes con enfermedad arterial periférica no están claras, aunque parece que se deben a la vasodilatación, la antiagregación plaquetaria, el efecto antitrombótico.

- **Disminuye la reestenosis tras la implantación de stent coronario.**⁽¹⁵⁷⁾

Se han realizado diversos estudios sobre el riesgo de reestenosis en pacientes con implantación de stent coronario. El ensayo CREST compara el efecto del cilostazol con placebo para prevenir la reestenosis secundaria a la intervención percutánea coronaria con implantación de stent metálico. Se concluye una menor incidencia de reestenosis, sin embargo no existen diferencias estadísticamente significativas en cuanto a mortalidad, infarto de miocardio, sangrado, rehospitalización,...

El cilostazol se ha empleado en diferentes modelos de isquemia -reperusión en modelos experimentales con buenos resultados.

a) Isquemia-reperusión miocárdica⁽¹⁵⁸⁾

- Reduce el tamaño del infarto de miocardio
- Modula los canales de calcio mitocondriales activados por el potasio, consiguiendo así efecto cardioprotector.

b) Isquemia-reperusión cerebral^(145, 159)

- Reducción del volumen de tejido infartado
- Reducción de los déficit neurológicos
- Retrasa el aumento del flujo sanguíneo en el área penumbral, durante la isquemia

c) Isquemia-reperusión intestinal⁽¹⁶⁰⁾

- Disminuye la adhesión de leucocitos al endotelio.
- Efecto protector del endotelio por leucocitos activados, conduce a una preservación de la mucosa intestinal en lesiones por isquemia -reperusión.

En cuanto a las dosis empleadas de cilostazol en los diferentes modelos de isquemia-reperfusión en ratas:

➤ Isquemia-reperfusión cerebral:

- Lee et al. administran 30 mg/kg de peso de cilostazol por vía oral, dos veces a los 5 minutos y a las 4 horas de haber comenzado la perfusión, después de dos horas de isquemia, consiguiendo una disminución del área y el volumen de lesión hemisférica cerebral.⁽¹⁶¹⁾
- La administración de 30 mg/kg de peso de cilostazol por vía oral, dos horas antes de la oclusión de la arteria cerebral media, disminuye el volumen del infarto cerebral y aumenta el flujo sanguíneo colateral en el área de penumbra⁽¹⁵⁹⁾.
- Choi et al. administran 10 mg/kg de peso de cilostazol por vía intravenosa, 5 minutos o una hora después de completar las dos horas de isquemia por oclusión de la arteria cerebral media izquierda y posterior perfusión de un día, demostrando su efecto neuroprotector por sus propiedades antioxidantes y anti-apoptóticas⁽¹⁶²⁾.

➤ Isquemia –reperfusión intestinal (ratones)

- La administración de cilostazol en dosis de 10 mg/kg de peso por vía oral, treinta minutos antes de la isquemia, realizando isquemias de 20 minutos seguidas por una hora de perfusión, inducen una protección del órgano sometido a la isquemia

(intestino) por inhibición de agregación plaquetaria y de adhesión de los leucocitos al endotelio, además, histológicamente favorece el mantenimiento de la altura de las vellosidades ⁽¹⁶⁰⁾.

1.5.2.1 Ficha técnica ⁽¹⁶³⁾

- **Composición cualitativa y cuantitativa**

Cada comprimido contiene como principio activo cilostazol de 100 mg. Excipientes: Almidón de maíz, celulosa microcristalina, carmelosa cálcica, hipromelosa y estearato magnésico.

- **Forma farmacéutica**

Comprimidos

- **Datos clínicos**

Indicaciones terapéuticas

Cilostazol está indicado para mejorar la distancia máxima y exenta de dolor que pueden caminar pacientes que padecen de claudicación intermitente, que no padecen de dolor en estado de reposo y que no presentan indicios de necrosis tisular periférica (estadio II de la clasificación de Fontaine de enfermedad arterial periférica).

Posología y forma de administración

La dosis recomendada de cilostazol es 100 mg dos veces al día. Cilostazol debe tomarse 30 minutos antes o dos horas después del desayuno y de la cena. La

administración de cilostazol con las comidas ha mostrado aumentar las concentraciones plasmáticas máximas ($C_{máx}$) de cilostazol, lo que puede estar asociado a un incremento de la frecuencia de efectos adversos.

El tratamiento durante 16 a 24 semanas puede resultar en una mejora significativa de la distancia a caminar. Puede observarse un efecto favorable después de 4 a 12 semanas de tratamiento.

El médico debe considerar otras opciones terapéuticas si cilostazol no es efectivo después de 6 meses de tratamiento.

Contraindicaciones

- Hipersensibilidad conocida al cilostazol o a alguno de sus excipientes
- Insuficiencia renal grave: Aclaramiento de creatinina ≤ 25 ml/min
- Insuficiencia hepática moderada o grave
- Insuficiencia cardiaca congestiva
- Embarazo
- Pacientes con cualquier predisposición conocida a las hemorragias (p. ej., úlceras pépticas activas, hemorragia cerebral, retinopatía diabética proliferativa, hipertensión arterial mal controlada)
- Pacientes con antecedentes de taquicardia ventricular, fibrilación ventricular o ectopia ventricular multifocal, independientemente de si están siendo tratados en forma adecuada o inadecuada, así como pacientes con prolongación del intervalo QTc

Advertencias y precauciones especiales de empleo

Debido al efecto inhibitorio de la agregación plaquetaria de cilostazol, es posible que se produzca un incremento del riesgo de hemorragia asociado con una intervención quirúrgica (incluyendo intervenciones menores como la extracción dentaria). Si un paciente se va a someter a una intervención quirúrgica electiva y el efecto antiagregante plaquetario no es necesario, se debe discontinuar el tratamiento con cilostazol 5 días antes de la intervención.

Se ha informado de casos de frecuencia rara o muy rara sobre anomalías hematológicas, incluyendo trombocitopenia, leucopenia, agranulocitosis, pancitopenia y anemia aplásica. La mayoría de los pacientes se recuperaron después de suspenderse el tratamiento con cilostazol. Sin embargo, hubo casos de pancitopenia y anemia aplásica que tuvieron un desenlace fatal. Además de informar sobre episodios de hemorragias y facilidad para la aparición de hematomas, debe advertirse a los pacientes que informen sin demora sobre cualquier indicio que pudiera delatar un desarrollo precoz de discrasia sanguínea, tales como pirexia y dolor de garganta. Debe practicarse un recuento hemático completo en caso de sospecha de infección o si hubiera otro indicio clínico de discrasia sanguínea. Cilostazol debe dejarse de tomar inmediatamente si hubiera indicios clínicos o de laboratorio de anomalías hematológicas.

Se aconseja precaución cuando cilostazol es administrado junto con inhibidores o inductores de CYP3A4 y CYP2C19 o con sustratos de CYP3A4. Ver la sección 4.5 para más información.

Se recomienda precaución al prescribir cilostazol en pacientes con ectopia auricular o ventricular y pacientes con fibrilación o flutter auricular.

Debe proceder con precaución al administrar concomitantemente cilostazol con cualquier otro agente capaz de disminuir la presión arterial, debido a la posibilidad de un efecto hipotensivo aditivo con una taquicardia refleja.

Asimismo se debe proceder con precaución al administrar cilostazol simultáneamente con cualquier otro agente que inhiba la agregación plaquetaria.

Interacción con otros medicamentos y otras formas de interacción

- Inhibidores de la agregación plaquetaria

Cilostazol es un inhibidor de PDE III con actividad antiagregante plaquetaria. En un estudio clínico en sujetos sanos, cilostazol 150 mg b.i.d. administrado durante cinco días no provocó una prolongación del tiempo de sangría.

- Aspirina

La administración concomitante durante corto tiempo (≤ 4 días) con cilostazol dio como resultado un aumento del 23-25% en la inhibición de la agregación plaquetaria inducida *ex vivo* por ADP en comparación con aspirina sola. No hubo tendencia aparente hacia una incidencia mayor de efectos adversos hemorrágicos en pacientes que tomaban cilostazol y aspirina en comparación con pacientes que tomaban placebo y dosis equivalentes de aspirina.

- Clopidogrel y otros medicamentos antiagregantes plaquetarios

La administración concomitante de cilostazol y clopidogrel no tuvo ningún efecto sobre el recuento de plaquetas, el tiempo de protrombina (PT) o el tiempo parcial de tromboplastina activada (aPTT). Todos los sujetos sanos del estudio acusaron una prolongación del tiempo de sangría con el clopidogrel sólo y la administración concomitante con cilostazol no dio como resultado un efecto significativo adicional del tiempo de sangría. Se recomienda proceder con cuidado al administrar concomitantemente cilostazol con otros medicamentos que inhiben la agregación plaquetaria. Se recomienda vigilar periódicamente el tiempo de sangría. Debe prestar atención especial a pacientes que reciben tratamiento con varios antiagregantes plaquetarios.

- Anticoagulantes orales como warfarina

En un estudio clínico de dosis única, no se observó ninguna inhibición del metabolismo de la warfarina ni un efecto en los parámetros de coagulación (PT, aPTT, tiempo de sangría). Sin embargo, conviene proceder con cautela en pacientes que reciben tanto cilostazol como también cualquier agente anticoagulante, practicándose una vigilancia frecuente para reducir la posibilidad de hemorragias.

- Inhibidores de enzimas de citocromo P-450 (CYP)

Cilostazol es metabolizado extensamente por enzimas CYP, especialmente CYP3A4 y CYP2C19 y en grado menor CYP1A2. El metabolito dehidro, que posee de 4 a 7 veces la potencia de cilostazol en la inhibición de la

agregación plaquetaria, parece estar formado primordialmente vía CYP3A4. El metabolito 4'-trans-hidroxi, con una potencia cinco veces inferior a la de Cilostazol, parece estar formado primordialmente vía CYP2C19. Por ello, los medicamentos que inhiben CYP3A4 (como algunos macrólidos, antifúngicos azólicos, inhibidores de proteasa) o CYP2C19 (como los inhibidores de la bomba de protones, IBP) incrementan la actividad farmacológica total en un 32 y 34% respectivamente y podrían tener el potencial de realzar los efectos indeseables de cilostazol. Una reducción de la dosis a 50 mg de cilostazol b.i.d. podría considerarse basándose en la respuesta clínica y la tolerancia individuales.

La administración de 100 mg de cilostazol el séptimo día de un tratamiento con eritromicina (un inhibidor moderado de CYP3A4) 500 mg t.i.d. dio como resultado un aumento del AUC de cilostazol en un 74%, acompañado de una disminución del 24% en el AUC del metabolito dehidro pero con aumentos notables del AUC del metabolito 4'-trans-hidroxilado.

La administración concomitante de dosis únicas de 400 mg de ketoconazol (un fuerte inhibidor de CYP3A4) y 100 mg de cilostazol dio como resultado un incremento del AUC en un 117%, junto con un descenso del 15% en el AUC del metabolito dehidro y un incremento del 87% en el AUC del metabolito 4'-trans-hidroxilado, que finalmente incrementa la actividad farmacológica total en un 32% comparado con cilostazol solo.

La administración de 100 mg de cilostazol b.i.d. con 180 mg al día en dosis única de diltiazem (un inhibidor del CYP3A4) tuvo como resultado un incremento del AUC de cilostazol del 44%. La coadministración no afectó la

exposición al metabolito dehidro, si bien aumentó en un 40% el AUC del metabolito 4'-trans-hidroxiado. En pacientes que participaron en ensayos clínicos, el uso concomitante con diltiazem produjo un incremento en el AUC de cilostazol de un 53%.

La administración de una dosis única de 100 mg de cilostazol con 240 ml de zumo de pomelo (un inhibidor de CYP3A4 intestinal) no produjo ningún efecto sobre la farmacocinética de cilostazol.

La administración de una dosis única de 100 mg de cilostazol el séptimo día de un tratamiento con 40 mg al día de omeprazol (un inhibidor de CYP2C19), aumentó el AUC de cilostazol en un 26% junto con un aumento del 69% en el AUC del metabolito dehidro y un descenso del 31% en el AUC del metabolito 4'- trans-hidroxiado, que finalmente aumenta la actividad total farmacológica en un 42% comparado con cilostazol solo.

- **Sustratos de enzimas del citocromo P-450**

Cilostazol ha mostrado aumentar el AUC de lovastatina (sustrato sensible para CYP3A4) y su ácido βhidróxiado en más del 70%. Se recomienda precaución en la administración concomitante con sustratos de CYP3A4 con un estrecho margen terapéutico (como cisaprida, halofantrina, pimocida, derivados ergóticos). Se recomienda precaución en caso de administración concomitante con simvastatina.

- **Inductores de enzimas del citocromo P-450**

El efecto de los inductores de CYP3A4 y CYP2C19 (tales como carbamezepina, fenitoína, rifampicina e hipérico) sobre la farmacocinética de cilostazol no se ha

evaluado. El efecto antiagregante plaquetario puede teóricamente alterarse y debe ser monitorizado cuidadosamente en la administración concomitante de cilostazol con inductores de CYP3A4 y CYP2C19.

En los estudios clínicos, fumar (que induce el CYP1A2) redujo en un 18% las concentraciones plasmáticas de cilostazol.

Reacciones adversas

Las reacciones adversas más frecuentemente referidas en ensayos clínicos fueron cefalea (en > 30%), diarrea y heces anormales (en > 15%). Estas reacciones fueron habitualmente de intensidad leve a moderada, siendo a veces aliviadas mediante una reducción de la dosis.

En la siguiente tabla se incluyen las reacciones adversas recogidas en estudios clínicos y en el periodo post-comercialización (Tabla 4).

La frecuencias se clasifican como: muy frecuentes ($\geq 1/10$), frecuentes ($\geq 1/100$ a $< 1/10$), poco frecuentes ($\geq 1/1.000$ a $< 1/100$), raras ($\geq 1/10.000$ a $< 1/1.000$) muy raras ($< 1/10.000$), frecuencia no conocida (no puede estimarse a partir de los datos disponibles)

Clasificación por órgano y sistema	Frecuencia	Efectos adversos
Trastornos de la sangre y del sistema linfático	Poco frecuente	Anemia
	Raras	Aumento del tiempo de sangría, trombocitemia
	No conocida	Tendencia a hemorragias, trombocitopenia, granulocitopenia, agranulocitosis, leucopenia, pancitopenia, anemia
Trastornos del sistema inmunológico	Poco frecuente	Reacción alérgica
Trastornos del metabolismo y de la nutrición	Frecuente	Edema (periférico, facial)
	Poco frecuente	Hiperglicemia, diabetes mellitus
	No conocida	Anorexia
Trastornos psiquiátricos	Poco frecuente	Ansiedad
Trastornos del sistema nervioso	Muy frecuente	Cefalea
	Frecuente	Vértigo
	Poco frecuente	Insomnio, sueños anormales
	No conocida	Paresia, hipoestesia
Trastornos oculares	No conocida	Conjuntivitis
Trastornos del oído y del laberinto	No conocida	Tinnitus

Trastornos cardíacos	Frecuente	Palpitación, taquicardia, angina de pecho, arritmia, extrasístoles ventriculares
	Poco frecuente	Infarto de miocardio, fibrilación auricular, insuficiencia cardiaca congestiva, taquicardia supraventricular, taquicardia ventricular, síncope
Trastornos vasculares	Poco frecuente	Hemorragia ocular, epistaxis, hemorragia gastrointestinal, hemorragia inespecífica, hipotensión ortostática
	No conocida	Sofocos, hipertensión, hipotensión, hemorragia cerebral, hemorragia pulmonar, hemorragia muscular, hemorragia del tracto respiratorio, hemorragia subcutánea
Trastornos respiratorios, torácicos y mediastínicos	Frecuente	Rinitis, faringitis
	Poco frecuente	Disnea, neumonía, tos
	No conocida	Neumonía intersticial
Trastornos gastrointestinales	Muy frecuente	Diarrea, heces anormales
	Frecuente	Náusea y vómitos, dispepsia, flatulencia, dolor abdominal
	Poco frecuente	Gastritis
Trastornos hepatobiliares	No conocida	Hepatitis, función hepática anormal, ictericia

Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo	Frecuente	Erupción, prurito
	No conocida	Eccema, erupciones cutáneas, síndrome Stevens-Johnson, necrolisis epidérmica tóxica, urticaria
Trastornos músculo-esqueléticos y del tejido conjuntivo	Poco frecuente	Mialgia
Trastornos renales y urinarios	Raro	Insuficiencia renal, función renal anormal
	No conocida	Hematuria, polaquiuria
Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	Frecuente	Dolor torácico, astenia
	Poco frecuente	Escalofríos
	No conocida	Fiebre, malestar, dolor
Exploraciones complementarias	No conocida	Aumento de los niveles de ácido úrico, aumento de urea en sangre, aumento de creatinina en sangre

Tabla 4: Reacciones adversas del cilostazol.

Se observó un aumento de la incidencia de palpitación y edemas periféricos cuando cilostazol se combinó con otros vasodilatadores que provocan taquicardia refleja, tales como bloqueantes de los canales del calcio derivados de dihidropiridina.

La única reacción adversa que provocó una suspensión del tratamiento en ≥ 3 % de los pacientes tratados con cilostazol fue cefalea. Otras causas frecuentes de suspensión fueron palpitación y diarrea (ambos 1,1 %).

Cilostazol de por sí puede entrañar un riesgo mayor de hemorragias, pudiendo este riesgo verse incrementado por la administración concomitante de otros fármacos con este potencial.

El riesgo de hemorragias intraoculares puede ser mayor en pacientes con diabetes.

Sobredosis

La información acerca de sobredosis agudas en humanos es limitada. Probablemente los signos y síntomas sean cefalea severa, diarrea, taquicardia y posiblemente arritmias cardíacas.

Los pacientes deben ser observados y recibir tratamiento de apoyo. En función de lo que se estime oportuno, debe procederse al vaciado gástrico mediante la inducción al vómito o lavado gástrico.

- **Propiedades farmacológicas**

Propiedades farmacodinámicas

Mediante los datos obtenidos en nueve estudios controlados con placebo (en los que 1.634 pacientes estuvieron expuestos a cilostazol) pudo demostrarse que cilostazol mejora la capacidad de ejercicio, valorada por cambios en la distancia de claudicación absoluta (ACD o

bien distancia máxima recorrida) y la distancia de claudicación inicial (ICD o distancia recorrida sin dolor) en los ensayos de tapiz rodante. Después de 24 semanas de tratamiento, 100 mg de cilostazol b.i.d. aumenta la ACD media de 60,4 – 129,1 metros, mientras que los aumentos de ICD medios alcanzaron los 47,3 – 93,6 metros.

Un meta-análisis basado en las diferencias medias ponderadas de los nueve estudios indicó que hubo una mejora global absoluta de 42 m en la distancia máxima recorrida (ACD) para cilostazol 100 mg b.i.d. con respecto a la mejora observada con placebo. Esto se corresponde con una mejora relativa del 100% sobre placebo. Este efecto fue menor en pacientes con diabetes que en pacientes no diabéticos.

Los estudios en animales mostraron que el cilostazol posee efectos vasodilatadores, lo que ha sido demostrado en pequeños estudios en humanos en los que se midió el flujo sanguíneo del tobillo mediante pletismografía con medidor de presión. Cilostazol asimismo inhibe la proliferación de células musculares lisas en la rata y el ser humano *in vitro*, inhibiendo la reacción de liberación plaquetaria del factor de crecimiento derivado por plaquetas así como PF-4 en plaquetas humanas.

Los estudios en animales y en humanos (*in vivo* e *in vitro*) mostraron que cilostazol provoca una inhibición reversible de la agregación plaquetaria. Esta inhibición es efectiva contra toda una serie de agregantes (incluyendo estrés por cizallamiento, ácido araquidónico, colágeno, ADP y adrenalina); en humanos, la inhibición se mantuvo hasta 12 horas y al suspender la administración de cilostazol, la recuperación de la agregación se produjo dentro de 48-96 horas, sin hiperagregabilidad por rebote. Los efectos sobre

los lípidos circulantes en plasma se examinaron en pacientes que tomaban cilostazol. Después de 12 semanas, comparado con placebo, la dosis de 100 mg b.i.d. de cilostazol produjo una reducción en los triglicéridos de 0,33 mmol/L (15%) y un aumento en el colesterol HDL de 0,10 mmol/L (10%).

Se llevó a cabo un estudio randomizado de fase IV, controlado, doble ciego para valorar los efectos a largo plazo de cilostazol, centrado en la mortalidad y seguridad. En total, 1.439 pacientes con claudicación intermitente y sin insuficiencia cardíaca fueron tratados con cilostazol o placebo hasta tres años. Respecto a la mortalidad, la tasa de muertes analizada mediante Kaplan-Meier durante un periodo de 36 meses, en los que la mediana de tiempo de tratamiento fue de 18 meses, fue de 5,6% (95%CI de 2,8 a 8,4%) con cilostazol y 6,8% (95%CI de 1,9 a 11,5%) con placebo. El tratamiento a largo plazo con cilostazol no produjo problemas de seguridad.

Propiedades farmacocinéticas

Después de dosis múltiples de cilostazol 100 mg dos veces al día en pacientes con trastorno vascular periférico, se alcanzó el estado estacionario en 4 días.

La concentración plasmática máxima del cilostazol y de sus metabolitos circulantes primarios no aumenta proporcionalmente con el aumento de las dosis. Sin embargo, el área bajo la curva (AUC) de cilostazol y de sus metabolitos aumenta en forma aproximadamente proporcional con la dosis.

La vida media aparente de eliminación de cilostazol es de 10,5 horas. Hay dos metabolitos importantes, uno

dehidro y uno 4'-trans-hidroxilado, que poseen vidas medias aparentes similares. El metabolito dehidro es de 4 a 7 veces más activo como antiagregante plaquetario que el compuesto matriz, presentando el metabolito 4'-trans-hidroxilado sólo una quinta parte de tal actividad. Las concentraciones plasmáticas (medidas por el AUC) de los metabolitos dehidro y 4'-trans-hidroxi son ~41% y ~12% de las concentraciones de Cilostazol.

Cilostazol es eliminado predominantemente por el metabolismo y la eliminación urinaria subsiguiente de metabolitos. Los isoenzimas primarios que intervienen en su metabolismo son citocromo P-450 CYP3AA, en menor grado, CYP2C19 y en grado aún menor CYP1A2.

La ruta primaria de eliminación es urinaria (74%) siendo el resto eliminado con las heces. No se eliminó ninguna cantidad apreciable de cilostazol inalterado con la orina, siendo menos del 2% de la dosis excretada como metabolito dehidro. Aproximadamente el 30% de la dosis es eliminada con la orina como metabolito 4'-trans-hidroxilado. El resto es eliminado en forma de metabolitos de los cuales ninguno excede el 5% del total eliminado.

Cilostazol se fija en un 95-98% a proteínas, en primer lugar a la albúmina. El metabolito dehidro y el metabolito 4'-trans-hidroxilado se fijan en las proteínas en un 97,4% y un 66%, respectivamente.

No hay indicios de que cilostazol induzca enzimas microsomales hepáticos.

Datos preclínicos sobre seguridad

Cilostazol y muchos de sus metabolitos son inhibidores de la fosfodiesterasa III, la cual suprime la degradación del AMP cíclico, resultando un aumento del

cAMP en varios tejidos incluyendo plaquetas y vasos sanguíneos. Como con otros agentes inotrópicos positivos y vasodilatadores, cilostazol produjo lesiones cardiovasculares en perros. Tales lesiones no se observaron en ratas o monos y se consideran específicas de la especie. Investigaciones de QTc en perros y monos mostraron que no se prolongaba después de la administración de cilostazol o sus metabolitos. Los estudios de mutagenicidad fueron negativos en la mutación génica bacteriana, reparación del ADN bacteriano, mutación génica de células mamarias y aberraciones cromosómicas de médula ósea de ratón *in vivo*. En estudios *in vitro* con células de ovario de hámster chino, cilostazol produjo un ligero aunque significativo aumento en la frecuencia de aberración cromosómica. No se observaron resultados neoplásicos inusuales en estudios de dos años de carcinogenicidad en ratas a dosis orales de hasta 500 mg/kg/día, y en ratones a dosis de hasta 1000 mg/kg/día.

Precauciones especiales de conservación

No requiere condiciones especiales de conservación

HIPOTÉISIS DE TRABAJO

2. Hipótesis de trabajo

De la anterior revisión se extrae que el proceso de isquemia-reperfusión intestinal se acompaña de un daño tisular importante tanto a nivel local como en órganos a distancia, llegando incluso a provocar un fallo orgánico múltiple. Existen gran variedad de sustancias que se han empleado para superar el daño por isquemia-reperfusión intestinal.

Nuestra hipótesis de trabajo es que la administración de amlodipino y cilostazol, presumiblemente, es capaz de disminuir los daños tisulares a nivel del intestino delgado provocados por el síndrome de isquemia-reperfusión intestinal, siendo posible un mayor efecto beneficioso del cilostazol por su doble acción vasodilatadora y antiagregante.

OBJETIVOS

3. Objetivos

- **Objetivo principal.**

Valorar el teórico efecto protector del amlodipino y cilostazol sobre el intestino delgado, en un modelo experimental de isquemia-reperfusión intestinal

- **Objetivos específicos.**

1. Estudiar las alteraciones histológicas morfométricas (altura y anchura de la vellosidad, profundidad de la cripta, grosor de la pared, daño histológico de la mucosa y profundidad de las criptas) 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, profundidad de la cripta, grosor de la pared, daño histológico de la mucosa y profundidad de las criptas) tras la administración de cilostazol por vía oral.

3. Valorar las alteraciones histológicas morfométricas de la pared intestinal (altura y anchura de la vellosidad, profundidad de la cripta, grosor de la pared, daño histológico de la mucosa y profundidad de las criptas) tras la administración de amlodipino por vía oral

4. Valorar las alteraciones histológicas morfométricas de la pared intestinal (altura y anchura de la vellosidad, profundidad de la cripta, grosor de la pared, daño histológico de la mucosa y

profundidad de las criptas) tras el desarrollo de un modelo de isquemia-reperfusión intestinal en sujetos tratados con cilostazol, para diferentes tiempos de isquemia.

5. Valorar las alteraciones histológicas morfométricas de la pared intestinal (altura y anchura de la vellosidad, profundidad de la cripta, grosor de la pared intestinal, daño histológico de la mucosa y profundidad de las criptas) tras el desarrollo de un modelo de isquemia-reperfusión intestinal en sujetos tratados con amlodipino, para diferentes tiempos de isquemia.

6. Comparar las alteraciones histológicas morfométricas de la pared intestinal (altura y anchura de la vellosidad, profundidad de la cripta, grosor de la pared intestinal, daño histológico de la mucosa y profundidad de las criptas) entre modelos de isquemia-reperfusión intestinal tratados con cada uno de los fármacos (amlodipino y cilostazol), con diferentes tiempos de isquemia.

MATERIAL Y MÉTODOS

4. Material y Métodos

4.1. Animales.

Setenta y dos 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 220 y 509 gramos han sido utilizadas para este estudio. Las ratas fueron estabuladas en jaulas de seis, sometidas a ciclos circadianos de luz-oscuridad (12h: 12h), temperatura 22°C, humedad 65%, con alimento y agua ad libitum. Se distribuyeron de forma aleatoria en tres grandes grupos. Un primer grupo A tratado con el fármaco cilostazol (Pletal®), un segundo grupo B tratado con el fármaco amlodipino (Norvas® 5 mg), y un grupo C, al que se le administró suero fisiológico. Estos tres grupos se subdividieron en cuatro subgrupos, de seis animales cada uno: (Tabla 5)

GRUPOS	TRATAMIENTO	ISQUEMIA	REPERFUSION	SACRIFICIO
A1	Cilostazol	30 minutos	60 minutos	90 minutos
A2	Cilostazol	60 minutos	60 minutos	120 minutos
A3	Cilostazol	<i>Sham intervention*</i>		90 minutos
A4	Cilostazol	<i>Sham intervention*</i>		120 minutos
B1	Amlodipino	30 minutos	60 minutos	90 minutos
B2	Amlodipino	60 minutos	60 minutos	120 minutos
B3	Amlodipino	<i>Sham Intervention*</i>		90 minutos
B4	Amlodipino	<i>Sham Intervention*</i>		120 minutos
C1	Suero Fisiológico	30 minutos	60 minutos	90 minutos
C2	Suero Fisiológico	60 minutos	60 minutos	120 minutos
C3	Suero Fisiológico	<i>Sham Intervention*</i>		90 minutos
C4	Suero Fisiológico	<i>Sham Intervention*</i>		120 minutos

**Sham Intervention: laparotomía sin crear la lesión intestinal por isquemia-reperfusión.*

Tabla 5: Grupos de tratamiento

4.2. Protocolo quirúrgico

A todas las ratas, se les realizó una laparotomía y se les administró la sustancia correspondiente mediante inyección intragástrica con aguja de 25G (Figura 5), treinta minutos antes de practicar la isquemia mesentérica.

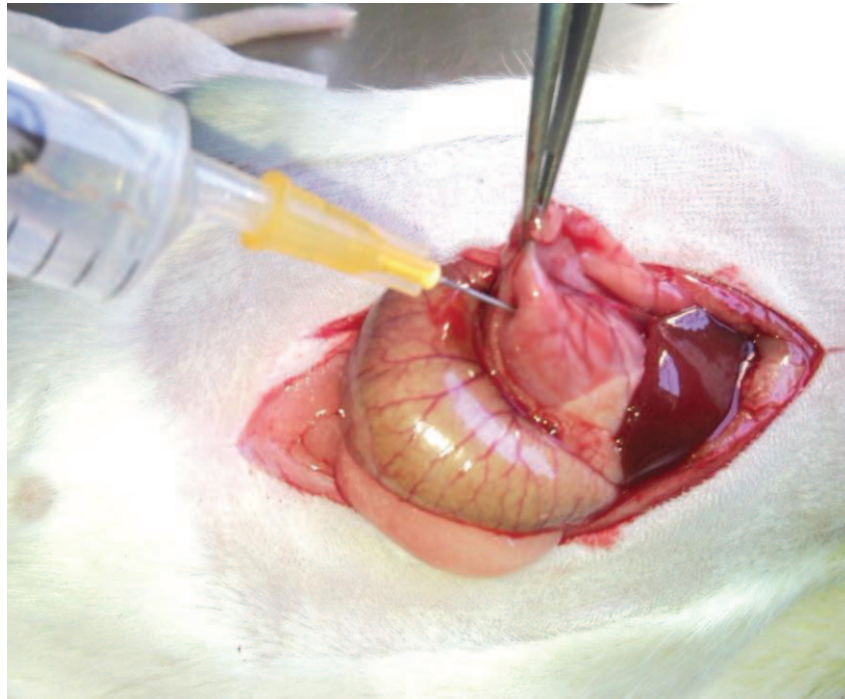


Figura 5: Inyección intragástrica de la sustancia correspondiente

La presentación farmacológica de las dos sustancias era en comprimidos, por lo que se disuelve cada comprimido en suero fisiológico para facilitar la inyección en el estómago del animal. La cantidad empleada de cada sustancia fue modificada en base a estudios previos (citas), pudiéndose observar en la siguiente tabla (Tabla 6):

FARMACO	DOSIS	DISOLUCION
Cilostazol 100 mg	30 mg/kg	50 ml de SSF
Amlodipino 5 mg	5 mg/kg	15 ml de SSF

Tabla 6: Dosis de los diferentes fármacos empleados

El volumen que se administró a cada rata podía variar entre 3 y 7 ml de la disolución de cada sustancia, calculado en función del peso del animal.

Posteriormente se clampaba la arteria mesentérica el tiempo establecido en función del grupo de estudio (Figura 6, 7 y 8). Después de llevar a cabo la revascularización durante sesenta minutos se realizó la extracción de un segmento de yeyuno y otro de íleon para su posterior análisis. En las ratas a las que se realizó *sham intervention*, se les practicó una laparotomía y se les administró la sustancia correspondiente por el mismo procedimiento. Finalmente, se extrajeron las muestras de yeyuno e íleon, sin realizar isquemia mesentérica.

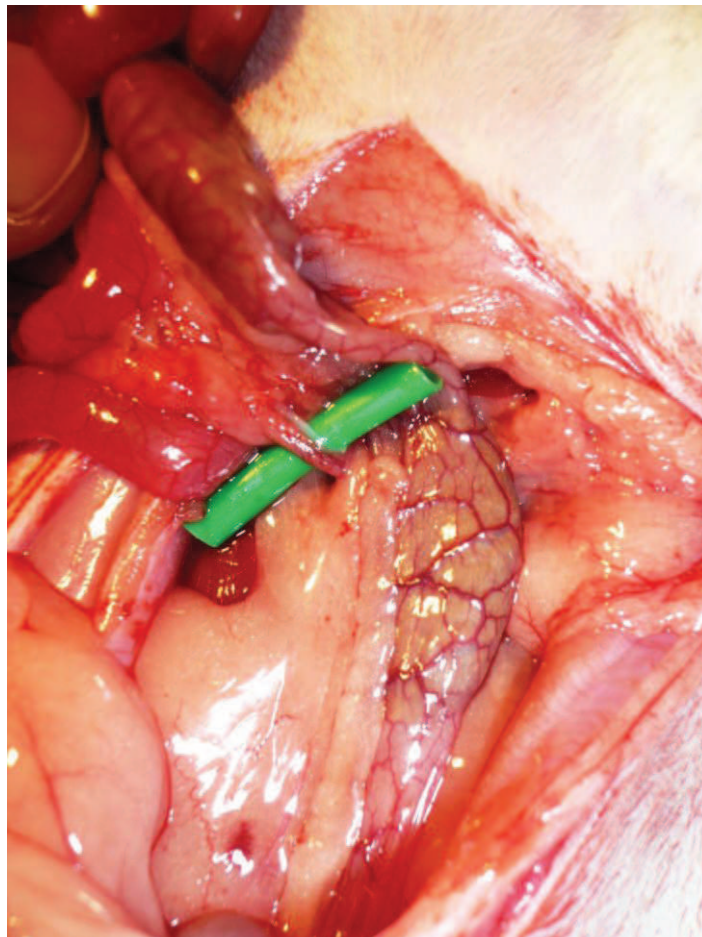


Figura 6: Identificación de la arteria mesentérica superior antes de su clampaje



Figura 7: Aspecto macroscópico del intestino delgado tras isquemia de 30 minutos



Figura 8: Aspecto macroscópico del intestino delgado tras isquemia de 60 minutos.

4.2.1. Anestesia

Las ratas fueron anestesiadas con clorhidrato de ketamina por vía intraperitoneal. Las dosis iniciales eran de 60 mg. /Kg. de peso corporal (20 mg por rata), con administración de dosis fraccionadas adicionales cuando era necesario, por la misma vía. La ketamina a estas dosis no inhibe el reflejo cardio-respiratorio por lo que todos los animales mantuvieron una respiración espontánea durante la intervención.

4.2.2. Práctica de la isquemia mesentérica

Para la realización de la isquemia mesentérica se accedió a la cavidad abdominal a través de laparotomía media longitudinal, rechazando fuera del abdomen todo el paquete intestinal, envolviéndolo en gasas húmedas. El origen de la arteria mesentérica superior en la rata se localiza bien, justo por encima de la vena renal izquierda. Se practicó oclusión temporal de la arteria mediante clamp vascular simple atraumático. El tiempo de isquemia era de 30 minutos para los grupos A1, B1, C1 y de 60 minutos para los grupos A2, B2, C2. (Tabla 7) Posteriormente se retiraba el clamp vascular y se cubría la laparotomía con gasas humedecidas en suero caliente.

Grupos	Isquemia
A1	30 min.
A2	60 min.
B1	30 min.
B2	60 min.
C1	30 min.
C2	60 min.

Tabla 7: Tiempos de isquemia

4.2.3. Revascularización

Los animales se mantuvieron anestesiados durante el tiempo de reperfusión, que era de 60 minutos en todos los grupos.

Tras la revascularización se realizó la extracción de las muestras de yeyuno e íleon.

4.2.4. Extracción de muestras

Tras el tiempo establecido de revascularización, se extrajeron de cada animal dos segmentos de intestino delgado de un centímetro de longitud cada uno, uno de yeyuno y otro de íleon. La localización del segmento yeyunal se calcula contando 10 cm. desde el primer asa yeyunal y la del segmento ileal contando 10 cm desde la válvula ileocecal. Se limpiaron las piezas de restos de mesenterio y se lavó la luz intestinal con suero fisiológico sin presión. Las piezas eran fijadas en formol como veremos en el apartado siguiente. Las ratas permanecieron anestesiadas hasta la extracción de las muestras. Posteriormente los animales eran sacrificados mediante dislocación cervical.

En las ratas que eran sometidas a *sham intervention*, se realizó la extracción de muestras después de noventa o ciento veinte minutos, respectivamente, según el grupo al que pertenecieran.

4.3. Preparación de las muestras histológicas

El intestino una vez extraído se procesaba para su estudio bajo microscopía óptica. Para su estudio se siguió la siguiente sistemática metodológica:

4.3.1 Fijación

Tras la extracción se procedía inmediatamente a la inmersión en una solución fijadora de formol al 10%, sobre un recipiente de cristal. La relación de volumen entre el líquido fijador y la pieza era de 20:1, relación mínima para combatir la pérdida de la solución fijadora (formol al 10%).

4.3.2. Lavado

Transcurrido el tiempo de fijación de las piezas (24 horas) se lavó con agua destilada durante dos horas para eliminar el exceso de fijador.

4.3.3. Deshidratación

Se sumergieron las piezas en alcohol etílico a concentraciones crecientes, sustituyendo todo el agua del tejido por alcohol. El procedimiento era el siguiente (Tabla 8):

Alcohol	Tiempo
Etílico al 70 % I	2 horas
Etílico al 70 % II	2 horas
Etílico al 96 % I	1 hora
Etílico al 96 % II	1 hora
Etílico al 100 % I	1 hora
Etílico 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

Tabla 8: Deshidratación de las muestras

4.3.4. Inclusión en parafina

Extraídas las piezas del benzol, éstas 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 era sustituido totalmente el benzol y la parafina penetraba en los tejidos e impregnaba todas las estructuras. Los pasos por los diferentes tipos de parafina se realizaban en estufa de temperatura diferente para la parafina blanda (51-53°C) y para la parafina dura (57-60°C).

4.3.5. Formación de bloques y montaje

Para obtener una parafina adecuada para ser seleccionada se efectuaba el quemado de la misma, hasta que ésta adquiría un color pardo-amarillento, lo que indicaba que estaba dispuesta para la formación de bloques. La parafina se depositaba en unos moldes metálicos especiales donde posteriormente eran depositados los fragmentos intestinales objeto de estudio. Una vez enfriada la parafina, los bloques estaban preparados para el corte al microtomo.

Se obtuvieron cortes seriados de un espesor de 6 micras. Los cortes eran adheridos a los portaobjetos, adecuadamente preparados con albúmina, con el fin de facilitar la adherencia a las muestras. En cada portaobjetos se colocaron varios cortes seriados del mismo fragmento intestinal.

Los portaobjetos eran desengrasados mediante inmersión en alcohol-éter.

Por último, los portaobjetos se introducían en una estufa a 37°C durante 24 horas con el objeto de que la albúmina se coagulara y se produjera una buena adherencia de los cortes al portaobjetos.

4.3.6. Desparafinación de los cortes

Los portaobjetos eran sometidos a inmersión en Xilol y luego en alcoholes de concentración decreciente. La secuencia empleada era la siguiente (Tabla 9):

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

Tabla 9: Desparafinación de los cortes

4.3.7. Tinción con hematoxilina-eosina

Los colorantes utilizados fueron la hematoxilina de Harris y la eosina amarillenta. La pauta utilizada era la siguiente:

- Inmersión de las preparaciones previamente desparafinadas, en hematoxilina durante 7 minutos
- Lavado de los cortes con agua destilada (pH neutro)
- Diferenciación en alcohol clorhídrico durante 10 segundos, al objeto de eliminar el exceso de colorante
- Lavado de los portaobjetos en agua corriente (pH alcalino) durante 24 horas
- Inmersión de los objetos durante 10 minutos en agua oxigenada para eliminar el agua corriente
- Inmersión de las preparaciones en eosina durante 1 minuto
- Nuevo lavado en agua corriente
- Aclaramiento de los portaobjetos en agua destilada durante 10 minutos

4.3.8. Aclaramiento y montaje

Terminado el proceso de coloración, los cortes se pasaron por baños sucesivos de alcohol a concentraciones crecientes según la siguiente pauta (Tabla 10):

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

Tabla 10: Aclaramiento de las muestras

Una vez aclaradas las preparaciones se depositaron sobre los cortes pegamento Eukitt y se colocó encima el cubreobjetos.

4.4. Técnicas de histomorfometría

4.4.1. Material

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

4.4.2. Métodos

Para cada uno de los parámetros se realizaron tres mediciones por preparación.

Los parámetros que se midieron fueron los siguientes (Figura 9):

- *Altura de la vellosidad*
- *Anchura de la vellosidad*
- *Grosor total de la pared*
- *Profundidad de las criptas*
- Daño histológico de la mucosa

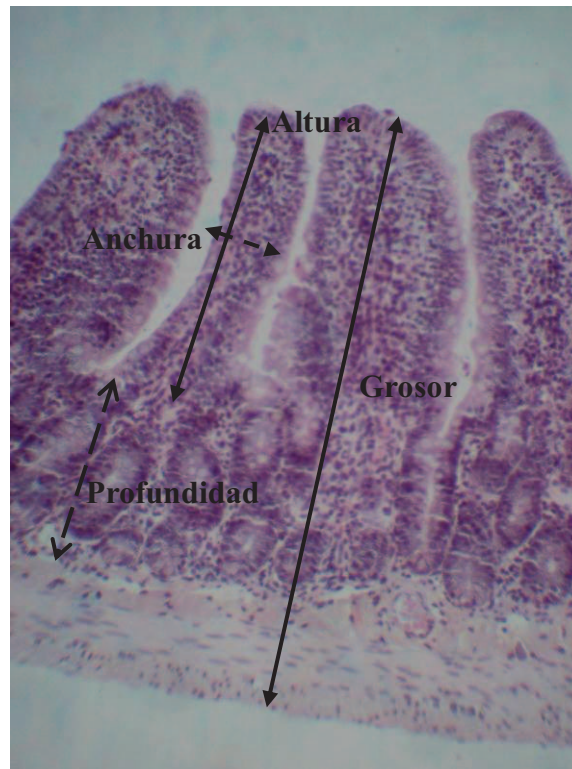


Figura 9: Parámetros de estudio en cada preparación

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 Chiu et al. (94), como sigue:

- **Grado 0:** mucosa normal (Figura 10).

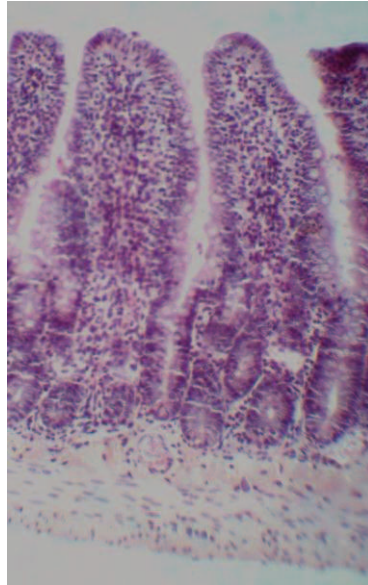


Figura 10: Grado 0

- **Grado 1:** desarrollo de espacios subepiteliales cerca del extremo de los villi con congestión capilar (Figura 11).

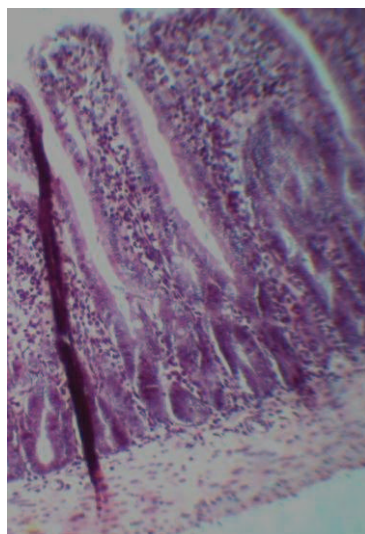


Figura 11: Grado 1

- **Grado 2:** extensión del espacio subepitelial con despegamiento del epitelio de la lámina propia (Figura 12).

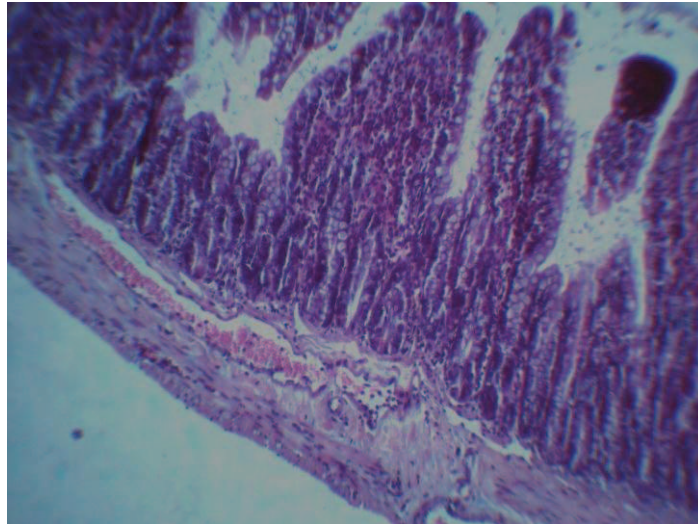


Figura 12: Grado 2

- **Grado 3:** despegamiento epitelial masivo de los lados de los villi con desepitelización de pocos extremos de los mismos (Figura 13).

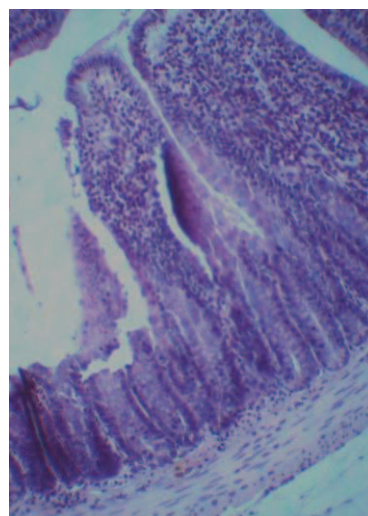


Figura 13: Grado 3

- **Grado 4:** desepitelización de los villi con exposición de la lámina propia y capilares dilatados (Figura 14).

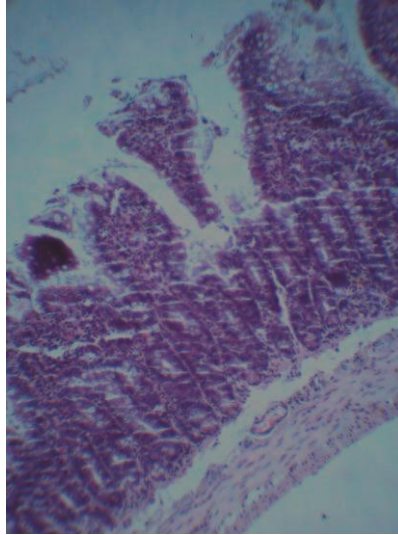


Figura 14: Grado 4

- **Grado 5:** digestión y desintegración de la lámina propia, hemorragia y ulceración (Figura 15).

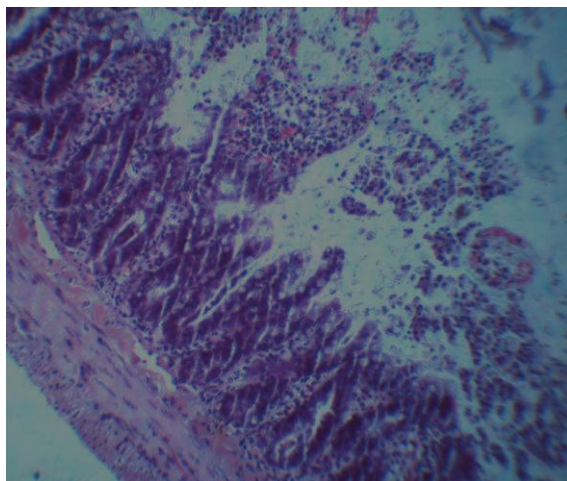


Figura 15: Grado 5

4.5. Métodos estadísticos

4.5.1. Material

Los resultados obtenidos en las distintas mediciones se analizaron mediante el paquete estadístico informático Statistics 15.0 (SPSS Inc, Chicago, IL).

4.5.2. Métodos

Los datos fueron expresados como medias y medianas y analizados con un estudio ANOVA unilateral. Una probabilidad de menos del 5% ($p < 0.05$) fue considerada estadísticamente significativa.

a) Medidas de localización y dispersión.

Según lo anteriormente expuesto, de cada grupo compuesto por 6 ratas se extrajeron un total de 18 mediciones de cada parámetro (3 de yeyuno y 3 de íleon por rata).

Para cada uno de los parámetros se calculó la media muestral y la mediana. Asimismo, se calculó el intervalo de confianza para la media poblacional con un nivel de confianza del 95%.

b) Comparación de los resultados.

Las medias y las medianas de cada uno de los grupos se compararon para un mismo tiempo de isquemia, considerando:

- ✓ Variable dependiente: Parámetros medidos de cada muestra histológica
- ✓ Variable independiente: el tratamiento empleado en cada caso.

• Análisis de la varianza de un factor.

Se utiliza para estudiar si las diferencias encontradas en las medias de los distintos grupos comparados son estadísticamente

significativas. El procedimiento ANOVA de un factor genera un análisis de varianza para una variable dependiente cuantitativa (variables estudiadas) por una variable de un solo factor (grupos experimentales).

El estadístico F del ANOVA de un factor se basa en el cumplimiento de dos supuestos fundamentales: normalidad y homocedasticidad o igualdad de varianza.

La normalidad significa que la variable dependiente se distribuye normalmente en las poblaciones muestreadas (tantas como grupos definidos por la variable independiente o factor). No obstante, si los tamaños de los grupos son grandes (como en este estudio), se comporta razonablemente bien incluso con distribuciones poblacionales sensiblemente alejadas de la normalidad. Por otro lado, la prueba de Levene estudia la igualdad de la varianza.

Evaluó diferencias entre las medias de los grupos, además, para realizar las múltiples comparaciones entre los grupos específicos de tratamiento (A Vs B), se realizó un test *post-hoc* de Tukey. En este método todas las comparaciones fueron referidas a una misma diferencia mínima. En el caso de estudiar las diferencias de los grupos de tratamiento frente al grupo control (A y B Vs C) se realizó el ajuste de Dunnett.

En casos en que no existía homogeneidad de la varianza, se realizó una prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, donde se compararon las medianas de cada grupo y las múltiples comparaciones entre cada uno de los grupos se estudiaron mediante un test de U de Mann-Whitney, utilizando la corrección de Bonferroni

Las diferencias eran consideradas estadísticamente significativas cuando $p < 0.05$. Los datos fueron analizados mediante el software estadístico SPSS Statistics 15.0 (SPSS Inc, Chicago, IL).

4.6. Principios y normas de experimentación animal.

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

- 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 experimentos, 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

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.

Para cada uno de los parámetros se expresaron medidas de localización y dispersión como son la media muestral, la mediana y el intervalo de confianza para la media poblacional con un nivel de confianza del 95%.

Las diferencias entre las medias de los distintos grupos (Tabla 11) se estudiaron mediante un test de ANOVA de un factor en el caso en que existiera homogeneidad de la varianza (Test de Levene. $p > 0.05$) y las diferencias específicas entre ellos con una prueba post-hoc de Tukey (A Vs B) o un test de Dunnett (A vs C y B vs C). En el caso en que la varianza no fuera homogénea (Test de Levene. $p < 0.05$), los estudios estadísticos realizados fueron una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y las diferencias entre cada uno de los grupos se estudiaban con un test de U de Mann-Whitney para muestras independientes, acompañado de la corrección de Bonferroni para controlar la tasa de error (nivel de significación $0,05/3 = 0,017$)

Grupos de comparación	Isquemia
A1, B1, C1	30 min.
A2, B2, C2	60 min.
A3, B3, C3	<i>Sham intervention</i> 90 min.
A4, B4, C4	<i>Sham intervention</i> 120 min.

Tabla 11: Clasificación de grupos de comparación.

5.1. Mortalidad.

No se observaron diferencias significativas de mortalidad entre grupos, de tal forma que ningún animal falleció tras tiempos de isquemia de 30 minutos. Dentro de los grupos de isquemia de 60 minutos, dos animales fallecieron del grupo tratado con amlodipino y uno del tratado con cilostazol.

5.2. Altura de las vellosidades

	A1	B1	C1	A2	B2	C2	A3	B3	C3	A4	B4	C4
1	287,07	653,38	355,29	312,59	195,37	413,20	419,19	422,09	401,24	500,35	415,08	461,46
	292,16	539,63	334,58	296,02	194,83	384,87	390,18	392,55	407,90	388,54	493,21	441,86
	373,70	571,30	408,40	243,73	153,05	402,37	361,25	409,88	382,76	429,37	420,04	417,57
2	391,63	344,80	360,56	242,06	214,89	336,03	468,55	398,17	368,13	523,48	342,43	409,22
	391,24	208,86	338,25	275,03	234,44	350,30	482,74	478,25	358,08	569,59	400,69	415,66
	377,24	244,49	268,30	260,30	224,93	322,52	424,31	405,17	373,68	511,91	429,44	433,06
3	302,55	547,09	330,93	401,94	236,04	198,71	407,14	468,87	378,69	575,31	422,16	417,20
	280,42	644,80	365,04	378,32	191,30	265,02	389,06	477,36	375,88	559,40	310,76	332,50
	415,27	603,73	368,35	368,71	207,21	250,53	426,38	352,54	340,50	530,76	372,75	469,74
4	243,85	220,75	382,65	360,56	200,37	222,31	397,97	368,89	517,60	323,05	377,25	428,08
	313,79	217,41	348,89	288,51	202,24	242,56	438,62	450,60	465,04	384,42	408,81	395,85
	256,11	238,98	301,43	332,68	230,37	322,04	405,42	402,77	539,68	410,51	467,97	421,40
5	335,78	254,06	505,52	377,44	193,43	225,71	444,77	423,21	460,39	333,77	380,52	460,80
	279,28	399,21	542,91	445,90	132,05	230,52	454,64	455,57	475,68	460,46	306,30	466,29
	381,52	267,25	408,04	450,55	187,26	277,48	404,56	397,07	416,39	344,02	409,21	441,37
6	507,81	466,11	325,34	457,20	194,67	420,87	412,11	361,74	318,78	347,23	475,25	443,26
	523,47	465,13	330,28	450,25	299,56	384,31	318,99	418,01	377,95	405,28	475,62	420,89
	588,74	386,73	376,61	406,35	240,66	350,30	373,59	383,00	415,21	370,70	449,29	388,43

Tabla 12: Altura de la vellosidad en yeyuno (micras)

	A1	B1	C1	A2	B2	C2	A3	B3	C3	A4	B4	C4
1	208,72	203,19	325,52	166,49	278,32	218,66	225,07	246,84	230,49	257,17	231,55	225,55
	204,54	153,60	282,81	208,17	233,25	228,15	226,58	264,14	276,82	241,23	170,19	167,63
	174,88	280,25	311,71	144,55	287,31	277,83	195,87	187,99	248,10	239,04	214,51	219,44
2	145,77	190,65	199,71	172,59	145,70	169,73	301,62	234,44	237,96	292,27	287,01	319,92
	165,79	243,56	247,89	179,23	257,76	153,20	269,73	347,47	189,94	262,86	240,61	302,50
	113,31	207,81	184,82	164,83	159,34	243,07	290,87	285,74	235,11	247,10	249,86	297,06
3	197,12	353,00	172,37	186,53	186,01	348,25	329,70	318,61	303,86	206,05	263,11	169,39
	171,20	272,93	190,33	141,30	213,35	302,68	310,75	176,10	240,37	217,80	309,83	263,17
	285,63	227,84	139,22	189,34	199,76	266,55	318,37	257,92	245,87	173,81	312,09	222,45
4	208,40	230,19	164,09	285,54	187,41	269,70	283,20	177,04	201,82	287,92	204,71	264,74
	226,70	178,31	171,43	309,76	123,03	255,26	225,82	231,52	242,13	260,64	248,76	252,95
	272,34	183,00	304,63	255,18	135,60	180,64	253,22	256,91	207,26	225,57	270,29	221,26
5	211,95	214,35	248,23	247,65	261,16	269,46	339,60	253,41	321,02	371,96	257,72	271,17
	232,35	317,58	236,33	119,00	173,52	197,39	312,15	241,29	325,92	307,63	342,74	244,85
	201,53	262,46	195,88	177,67	179,37	153,96	270,28	277,43	317,92	299,17	208,59	210,51
6	182,12	176,77	282,11	158,13	252,73	196,27	252,91	174,01	190,00	283,92	178,70	267,30
	191,67	173,81	206,21	193,56	237,60	222,58	257,89	205,28	251,89	243,82	298,80	320,91
	223,60	237,51	224,97	180,43	325,48	232,47	368,42	172,71	221,40	257,83	275,48	316,09

Tabla 13: Altura de la velloidad en ileon (micras)

GRUPOS	MEDIA	MEDIANA	IC 95%		Test de Levene (Valor p)	ANOVA (Valor p)	Kruskal Wallis (Valor p)	U Mann Whitney (Valor p)	Tukey y Dunnett (Valor p)
A1	363.42	354.74	315.22	411.63	0.000		0.869		
B1	404.09	392.97	324.21	483.98					
C1	369.52	357.92	336.58	402.46					
A2	352.67	364.63	315.77	389.58	0.000		0.000*	0.000**	A2-B2
B2	207.37	201.30	189.45	225.29				0.000**	B2-C2
C2	311.09	322.28	274.61	347.57				0.121	C2-A2
A3	412.19	409.62	392.66	431.73	0.121	0.948			
B3	414.76	407.52	395.65	433.87					
C3	409.64	392.00	379.79	439.49					
A4	442.67	419.94	399.33	486.02	0.000		0.491		
B4	408.71	412.14	381.85	435.57					
C4	425.81	424.74	409.41	442.21					

*Valor significativo a nivel <0.05

**Valor significativo a nivel < 0.017

Tabla 14: Parámetros y diferencias estadísticas de la altura de la velloidad en yeyuno (micras).

GRUPOS	MEDIA	MEDIANA	IC	95%	Test de Levene (Valor p)	ANOVA (Valor p)	Kruskal Wallis (Valor p)	U Mann Whitney (Valor p)	Tukey y Dunnett (Valor p)
A1	200.98	203.03	180.56	221.40	0.202	0.197			
B1	228,16	221,09	201,70	254,61					
C1	227,12	215,59	199,35	254,90					
A2	193.33	179.83	168.16	218.50	0.625	0.99			
B2	213.15	206.55	184.84	241.46					
C2	232.55	230.31	206.44	258.65					
A3	279.56	276.74	256.70	302.41	0.793	0.034*		A3-B3	0.034
B3	239.38	244.06	214.20	264.56				B3-C3	0.749
C3	249.33	241.25	227.71	270.95				C3-A3	0.104
A4	259.77	257.50	237.76	281.77	0.773	0.892			
B4	253.59	253.79	230.15	277.02					
C4	253.16	258.06	229.58	276.74					

*Valor significativo a nivel <0.05

Tabla 15: Parámetros y diferencias estadísticas de la altura de la vellosidad en íleon (micras).

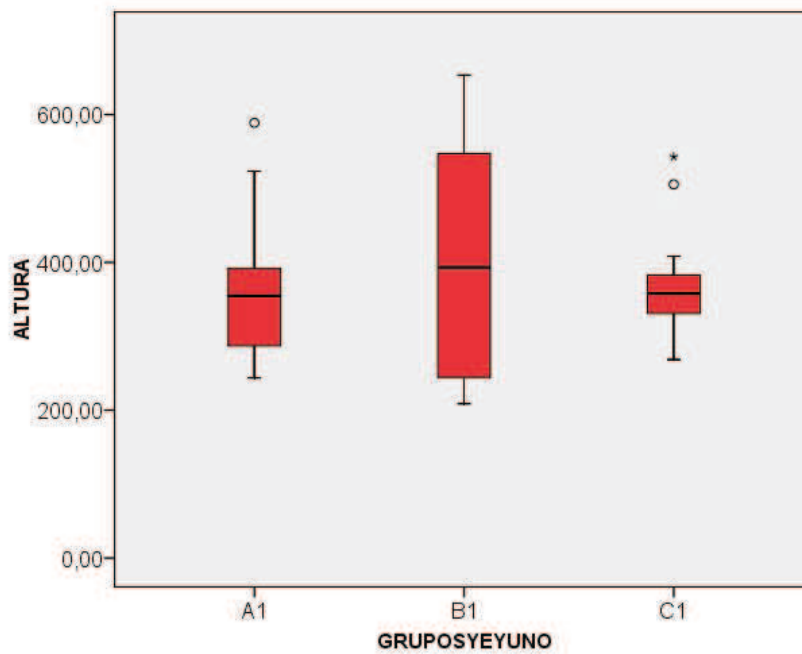


Figura 16: Altura de las vellosidades en yeyuno (micras) (A1-B1-C1)

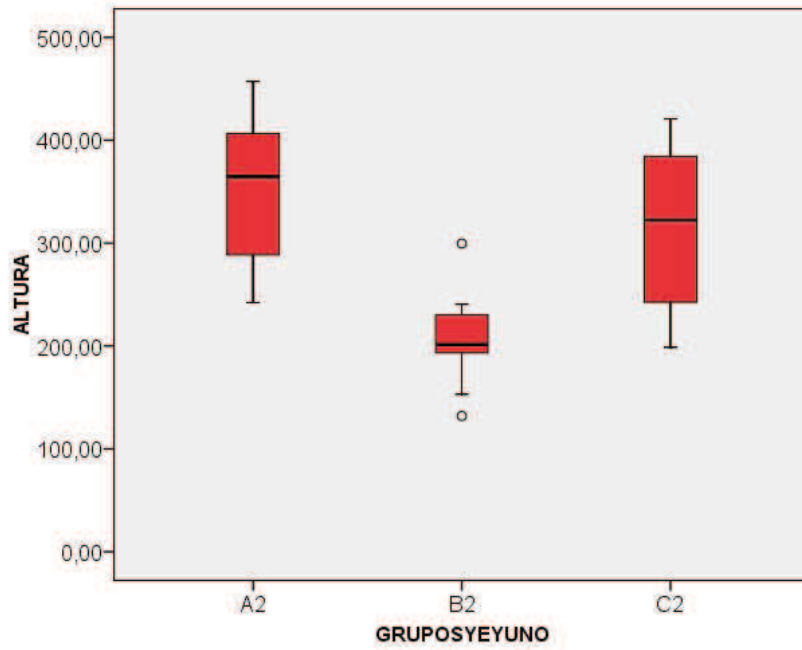


Figura 17: Altura de las vellosidades en yeyuno (micras) (A2-B2-C2)

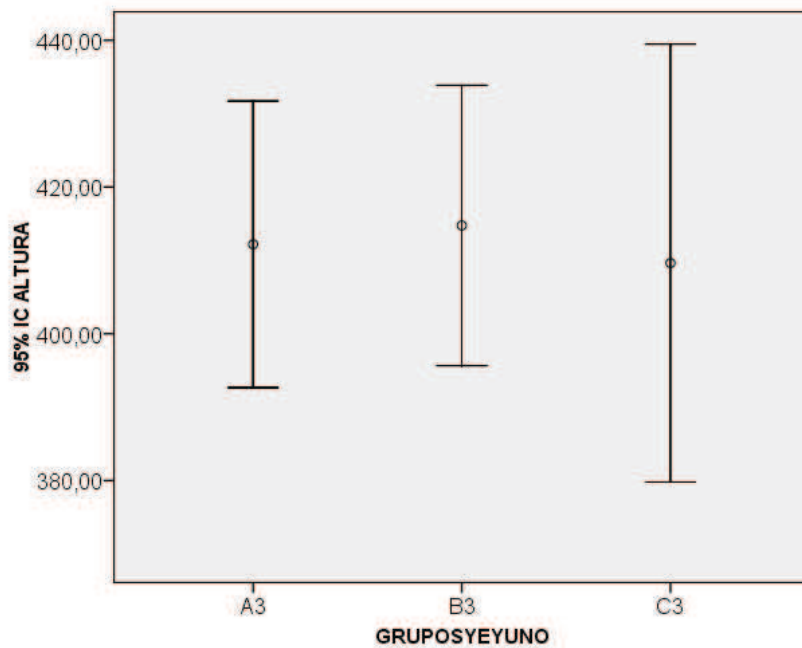


Figura 18: Altura de las vellosidades en yeyuno (micras) (A3-B3-C3)

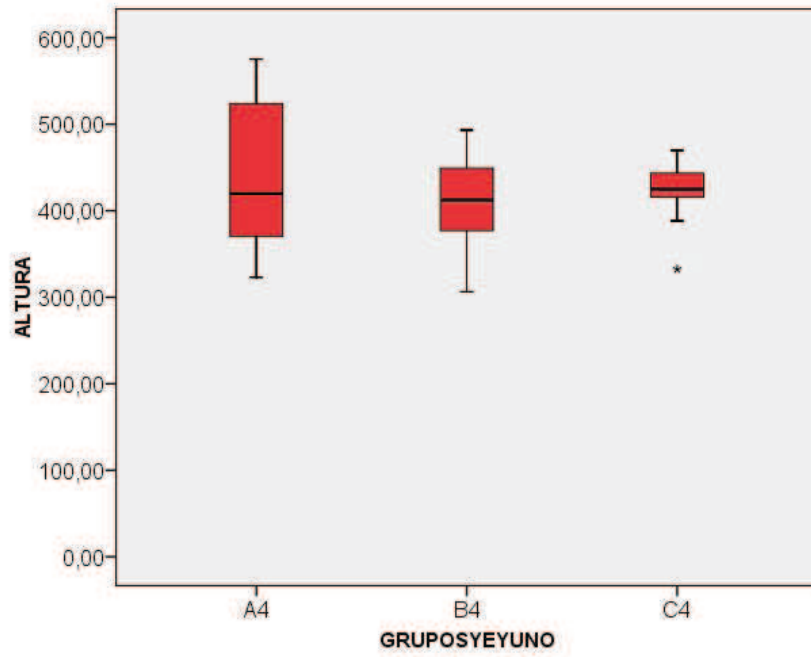


Figura 19: Altura de las vellosidades en yeyuno (micras) (A4-B4-C4)

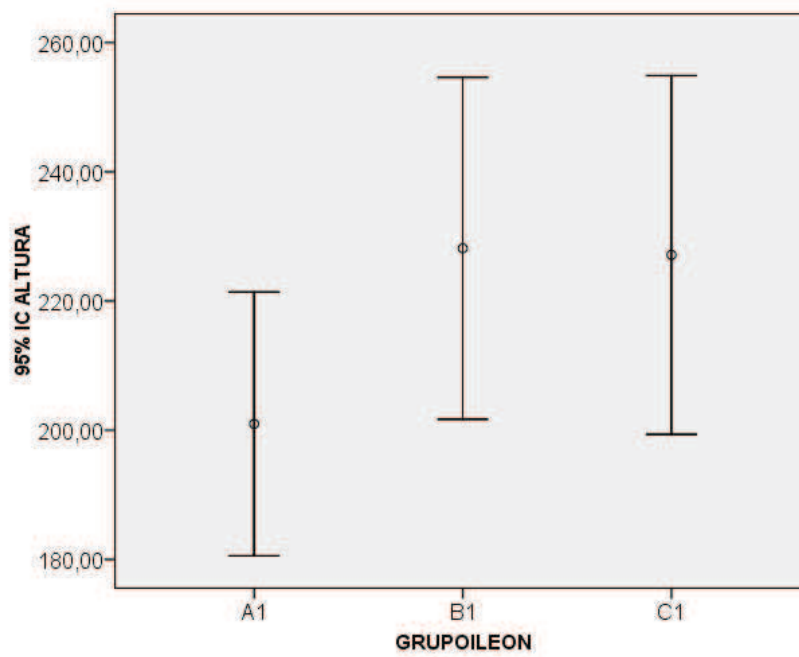


Figura 20: Altura de las vellosidades en íleon (micras) (A1-B1-C1)

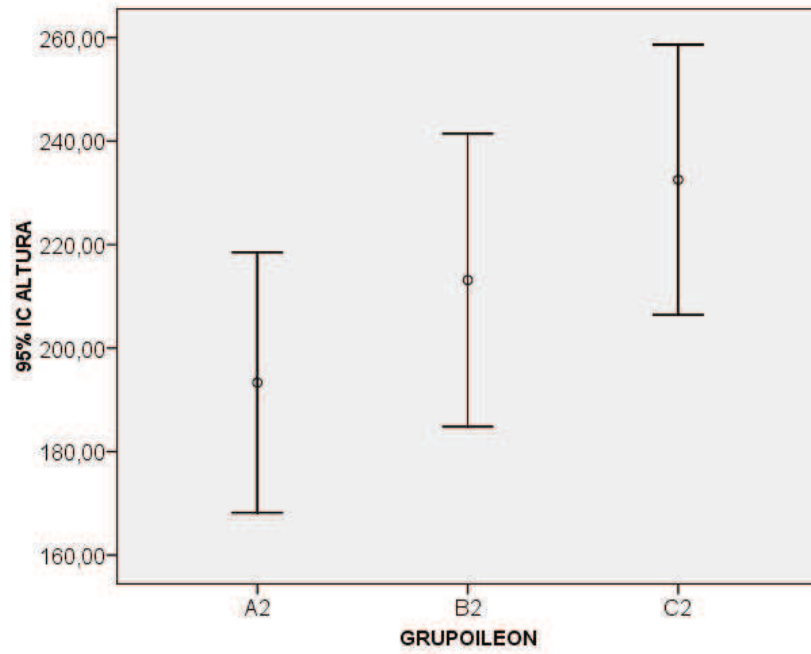


Figura 21: Altura de las vellosidades en íleon (micras) (A2-B2-C2)

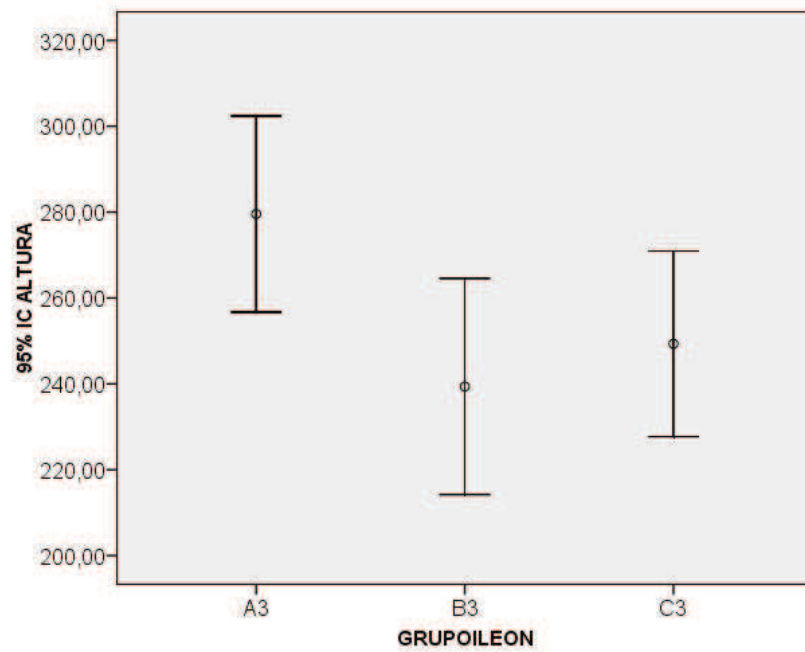


Figura 22: Altura de las vellosidades en íleon (micras) (A3-B3-C3)

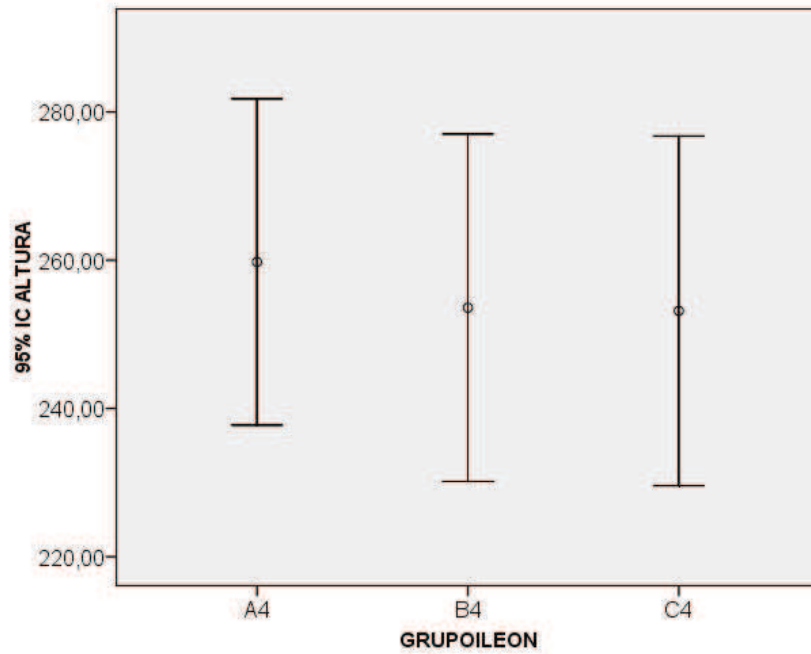


Figura 23: Altura de las vellosidades en íleon (micras) (A4-B4-C4)

5.3. Anchura de las vellosidades

	A1	B1	C1	A2	B2	C2	A3	B3	C3	A4	B4	C4
1	115,20	94,37	112,83	103,17	154,24	93,89	95,92	144,43	114,10	108,94	78,79	116,50
	147,74	72,45	128,03	99,03	110,37	98,20	122,41	121,24	115,71	125,90	133,14	143,86
	101,75	130,59	92,01	150,20	130,85	84,89	116,70	90,78	136,52	112,23	109,56	89,93
2	95,46	149,86	122,71	107,04	87,95	106,16	123,56	93,44	144,93	98,63	161,07	101,18
	130,20	121,02	125,91	87,29	98,26	175,27	151,01	109,15	148,99	143,37	126,79	98,85
	174,56	122,41	147,91	139,61	105,82	109,48	106,77	142,69	179,89	99,03	127,88	110,60
3	99,86	108,99	158,14	111,38	82,52	113,48	74,73	80,78	105,38	86,70	106,25	83,63
	129,88	107,13	106,92	168,18	114,76	145,02	120,03	100,41	102,87	137,92	141,18	129,83
	133,54	119,66	182,30	135,30	82,87	139,51	111,07	82,80	102,60	122,05	112,15	82,19
4	97,77	172,56	163,31	131,76	105,62	124,76	169,79	114,31	126,89	118,25	173,92	128,76
	128,14	150,11	107,60	102,79	115,43	82,86	110,90	86,77	132,49	160,47	136,83	96,23
	120,15	133,50	158,13	105,13	106,25	127,82	86,63	89,93	159,89	126,84	99,74	139,78
5	86,97	178,51	133,20	126,29	91,02	121,88	138,37	146,09	99,39	128,09	101,51	87,06
	135,25	92,74	113,02	114,10	82,11	131,74	190,75	112,86	75,19	88,60	88,08	104,92
	95,66	131,70	195,03	140,70	154,00	127,95	115,54	106,47	147,40	122,43	100,92	100,41
6	121,24	101,43	110,54	150,46	88,65	140,26	160,25	99,03	97,55	170,42	117,49	120,22
	94,34	108,47	140,19	122,35	98,60	99,22	130,76	98,78	157,30	149,08	98,28	115,94
	95,86	98,37	154,72	127,41	113,02	135,48	155,86	159,37	115,94	162,75	96,71	133,34

Tabla 16: Anchura de las vellosidades de yeyuno (micras).

	A1	B1	C1	A2	B2	C2	A3	B3	C3	A4	B4	C4
1	110,03	165,89	63,18	115,94	73,81	112,66	202,37	100,46	106,28	161,96	94,37	101,88
	70,38	129,73	94,79	95,05	117,24	121,79	146,01	122,56	137,02	178,51	92,67	94,04
	87,65	172,58	102,71	72,93	98,63	129,83	134,24	80,12	139,16	76,62	119,11	99,16
2	98,85	101,44	85,96	126,82	107,21	62,51	139,33	96,19	141,68	106,86	66,44	80,86
	126,72	99,52	142,21	107,12	119,05	64,70	79,56	57,78	88,94	116,46	72,31	89,85
	98,78	138,56	93,18	120,85	132,70	77,18	119,45	83,72	110,39	155,86	110,10	90,16
3	146,72	116,70	75,99	107,11	126,66	119,03	88,40	64,38	99,45	109,55	108,12	117,80
	120,13	90,93	92,68	99,45	108,92	97,53	85,35	86,77	112,52	101,64	81,69	132,31
	126,61	137,30	94,69	82,04	125,99	89,56	95,28	82,35	134,88	150,92	108,52	103,87
4	130,06	102,09	92,93	102,30	115,60	103,03	105,20	112,37	114,13	102,85	115,61	98,84
	137,80	153,25	82,45	137,49	76,80	110,73	114,93	81,64	101,59	97,57	125,24	72,57
	101,66	143,66	82,52	92,97	85,56	116,93	129,30	81,11	101,52	111,68	97,88	75,71
5	135,22	142,78	119,98	113,60	113,05	82,73	81,04	84,54	115,59	96,23	123,46	82,40
	104,32	136,56	83,88	128,36	94,01	79,63	68,22	121,47	75,11	165,61	153,65	84,77
	145,97	113,50	119,69	125,81	92,12	54,80	101,52	112,36	87,95	114,81	116,30	106,51
6	107,36	125,96	131,74	108,25	148,52	117,86	103,08	85,92	103,72	163,48	122,83	87,45
	116,08	133,63	105,47	148,72	125,06	101,32	94,90	79,60	91,09	121,36	113,67	102,30
	125,18	125,83	163,84	139,86	152,33	84,22	75,95	83,50	96,07	94,23	102,29	123,86

Tabla 17: Anchura de las vellosidades en íleon (micras)

GRUPOS	MEDIA	MEDIANA	IC	95%	Test de Levene (Valor p)	ANOVA (Valor p)	Kruskal Wallis (Valor p)	U Mann Whitney (Valor p)	Tukey y Dunnett (Valor p)
A1	116.86	117.67	105.40	128.33	0.656	0.084			
B1	121.88	120.34	108.00	135.77					
C1	136.25	130.61	122.23	150.27					
A2	123.45	124.32	112.79	134.12	0.806	0.072			
B2	106.80	105.72	95.94	117.65					
C2	119.88	123.32	108.10	131.66					
A3	126.72	121.22	111.89	141.56	0.671	0.124			
B3	109.96	103.44	98.10	121.83					
C3	125.72	121.41	112.25	139.20					
A4	125.65	124.16	113.30	138.00	0.673	0.146			
B4	117.24	110.85	104.77	129.70					
C4	110.18	107.76	100.52	119.84					

Tabla 18: Parámetros y diferencias estadísticas de la anchura de la vellosidad en yeyuno (micras).

GRUPOS	MEDIA	MEDIANA	IC	95%	Test de Levene (Valor p)	ANOVA (Valor p)	Kruskal Wallis (Valor p)	U Mann Whitney (Valor p)	Tukey y Dunnett (Valor p)
A1	116.08	118.10	105.89	126.28	0.823	0.003*		A1-B1	0.196
B1	129.44	131.68	118.19	140.69				B1-C1	0.001**
C1	101.55	93.93	88.98	114.11				C1-A1	0.111
A2	112.48	110.92	102.44	122.52	0.755	0.041*		A2-B2	0.996
B2	111.85	114.32	100.80	122.89				B2-C2	0.058
C2	95.89	99.42	84.70	107.08				C2-A2	0.047
A3	109.12	102.30	92.90	125.34	0.070	0.030*		A3-B3	0.052
B3	89.82	84.13	80.92	98.72				B3-C3	0.042
C3	108.73	105.00	99.20	118.25				C3-A3	0.998
A4	123.68	113.24	108.52	138.83	0.007		0.016*	0.229	A4-B4
B4	106.90	109.31	96.56	117.25				0.100	B4-C4
C4	96.91	96.44	88.84	104.97				0.004**	C4-A4

*Valor significativo a nivel <0.05

**Valor significativo a nivel < 0.017

Tabla 19: Parámetros y diferencias estadísticas de la anchura de la vellosidad en íleon (micras).

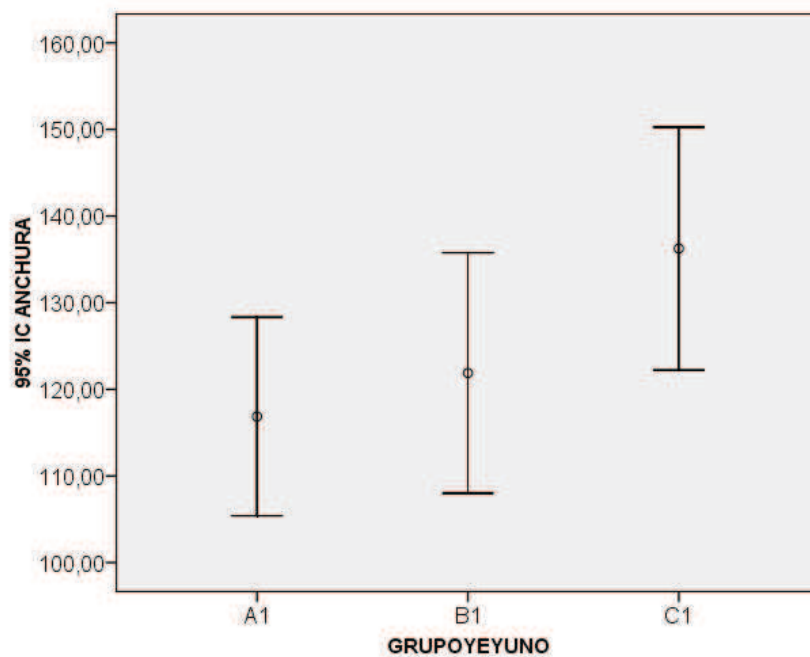


Figura 24: Anchura de las vellosidades en yeyuno (micras) (A1-B1-C1)

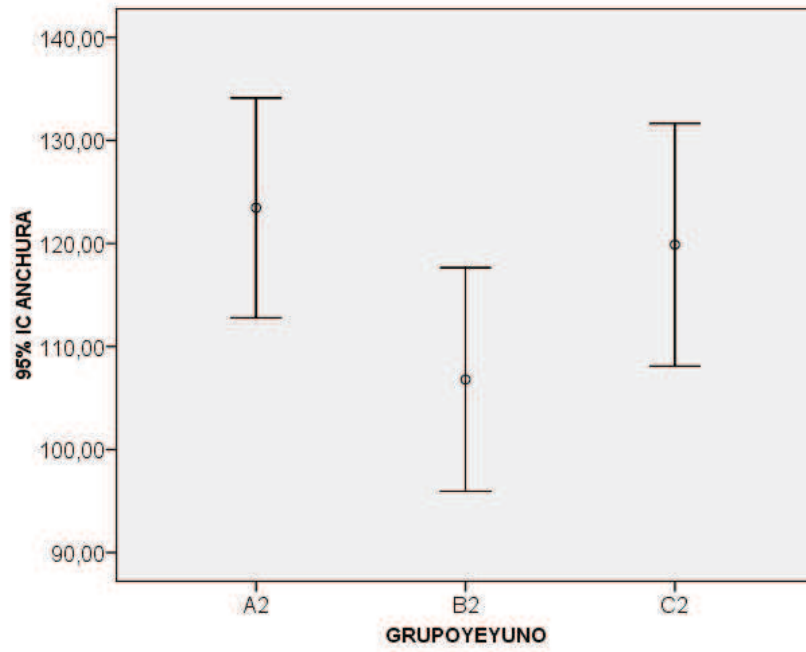


Figura 25: Anchura de las vellosidades en yeyuno (micras) (A2-B2-C2)

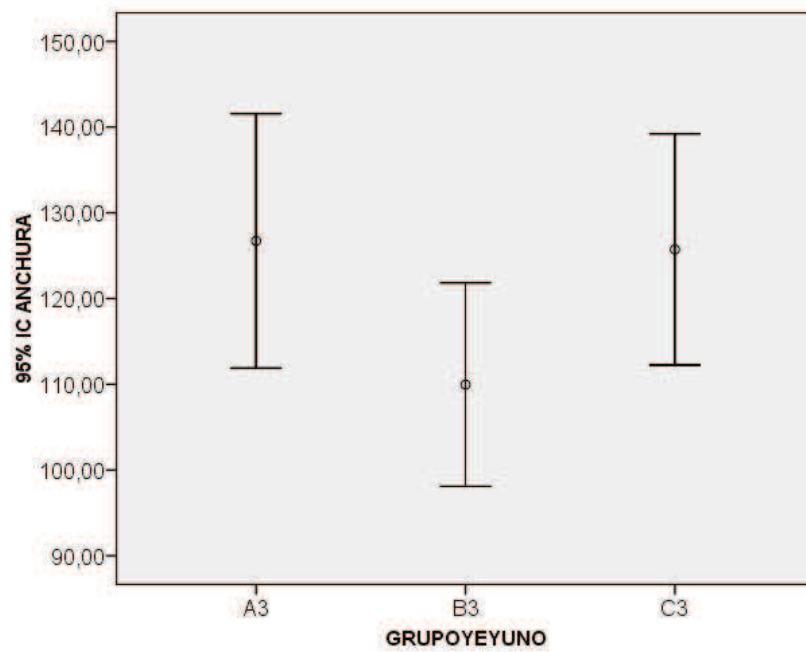


Figura 26: Anchura de las vellosidades en yeyuno (micras) (A3-B3-C3)

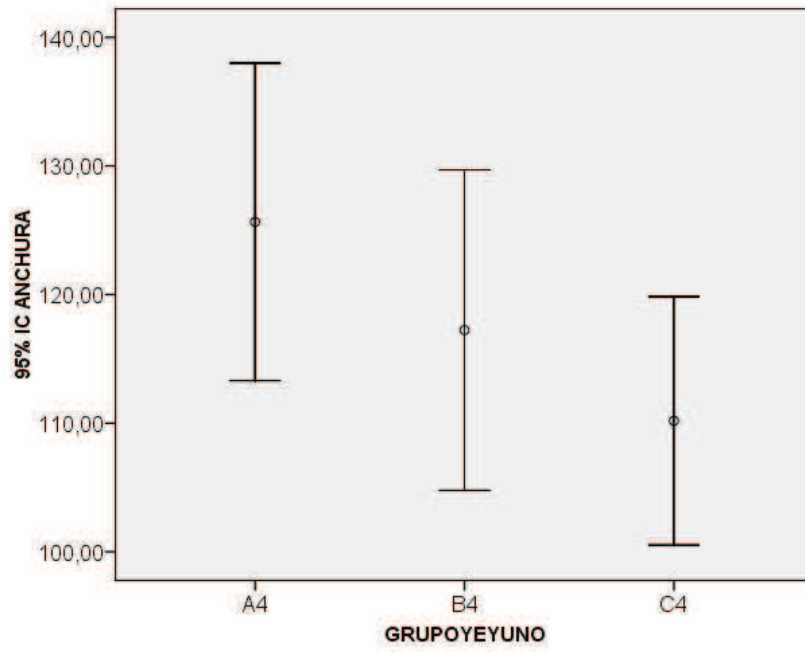


Figura 27: Anchura de las vellosidades en yeyuno (micras) (A4-B4-C4)

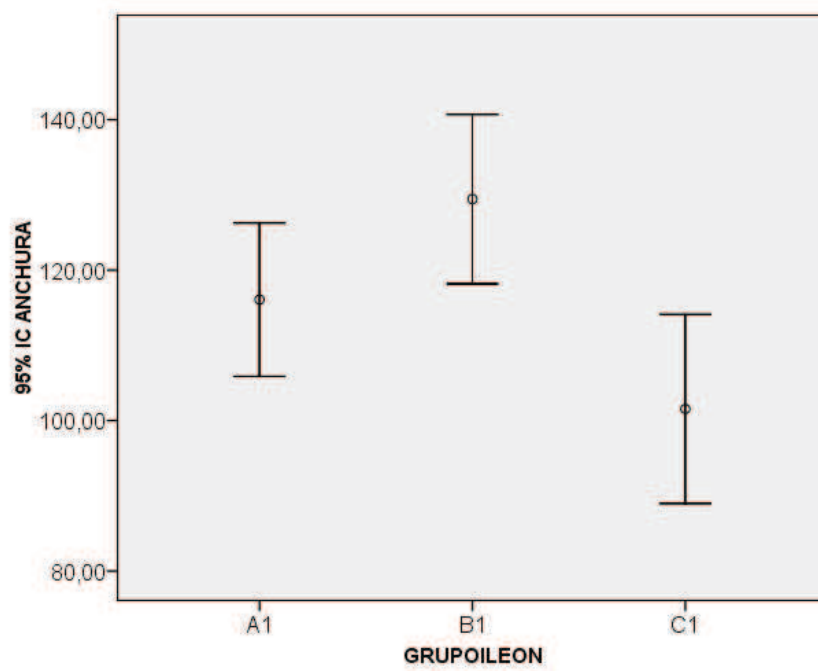


Figura 28: Anchura de las vellosidades en íleon (micras) (A1-B1-C1)

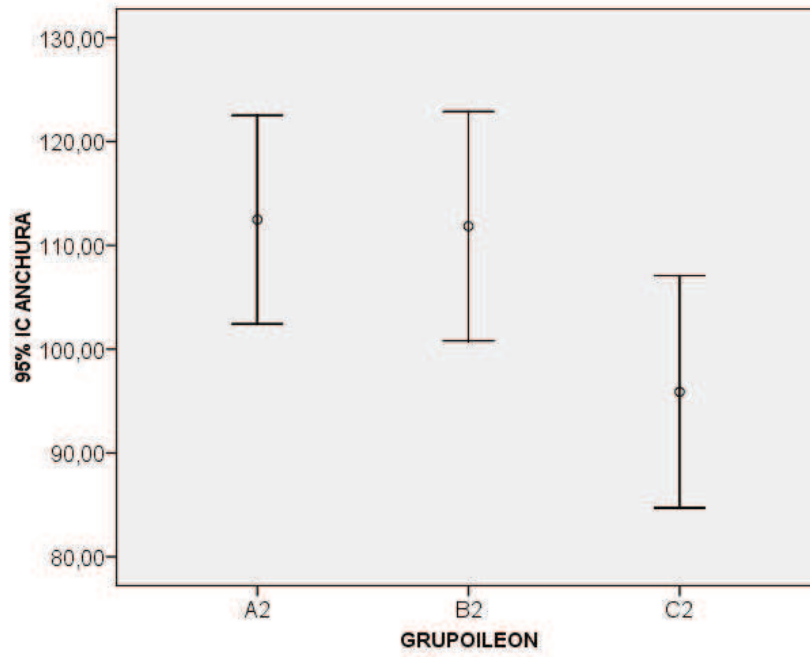


Figura 29: Anchura de las vellosidades en íleon (micras) (A2-B2-C2)

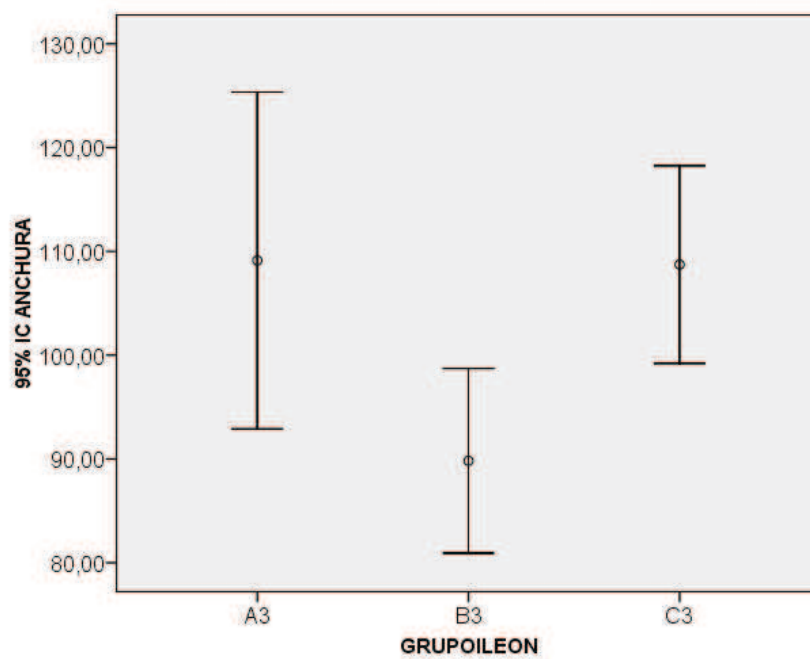


Figura 30: Anchura de las vellosidades en íleon (micras) (A3-B3-C3)

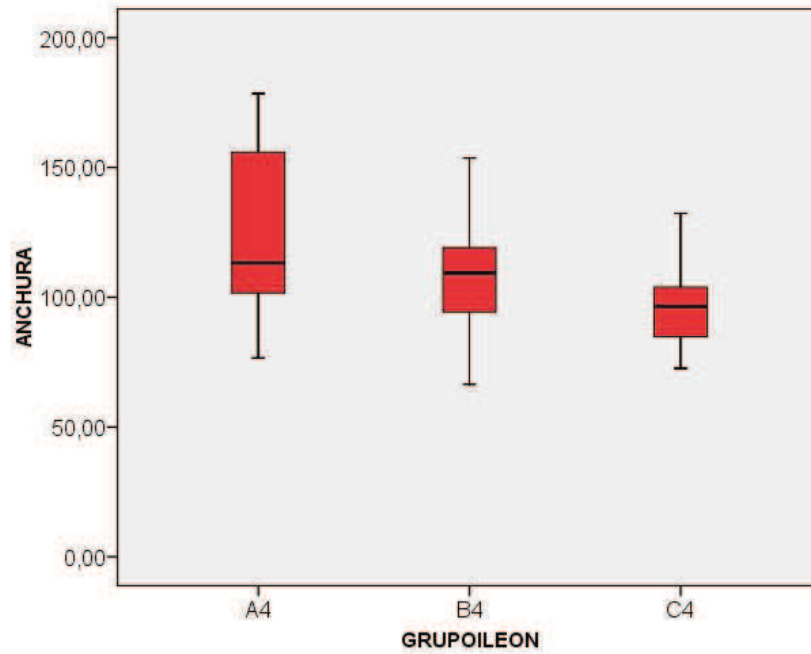


Figura 31: Anchura de las vellosidades en íleon (micras) (A4-B4-C4)

5.4. Daño histológico de la mucosa

	A1	B1	C1	A2	B2	C2	A3	B3	C3	A4	B4	C4
1	1	1	3	0	2	2	0	0	0	0	0	0
	1	0	1	1	2	3	0	0	1	0	0	0
	1	2	0	1	2	2	0	0	2	0	0	0
2	0	1	1	3	1	4	0	0	0	0	1	0
	0	1	0	1	2	3	0	0	0	0	1	0
	0	1	1	1	3	1	0	2	0	0	1	0
3	1	0	0	0	5	4	0	0	0	0	1	0
	1	0	0	0	4	4	0	0	0	0	1	0
	1	1	1	1	4	4	0	1	1	0	1	0
4	1	1	0	0	5	3	0	1	0	0	1	0
	1	1	0	0	3	3	0	0	0	0	1	0
	1	1	1	2	1	2	0	0	0	0	1	0
5	1	1	0	0	1	5	0	0	0	0	0	0
	2	0	1	0	1	3	0	0	0	0	0	0
	1	3	2	1	1	2	0	0	1	0	0	0
6	1	1	3	1	3	1	0	0	0	0	0	0
	1	0	1	1	2	2	0	0	0	0	0	0
	0	0	1	0	2	2	0	0	0	0	0	0

Tabla 20: Daño histológico de la mucosa en yeyuno (grados de Chiu)

	A1	B1	C1	A2	B2	C2	A3	B3	C3	A4	B4	C4
1	0	2	2	1	3	3	0	0	0	0	0	0
	0	1	2	1	3	5	0	0	0	0	0	0
	1	2	1	4	5	3	0	0	0	0	0	0
2	1	1	1	1	3	3	0	0	1	0	0	0
	1	2	1	2	3	4	0	0	0	0	0	0
	1	4	1	1	2	3	0	0	1	0	0	0
3	2	0	1	4	1	5	0	0	1	1	0	0
	1	0	1	2	1	5	0	0	0	2	0	0
	1	2	1	2	3	2	0	0	0	0	0	0
4	2	1	3	0	3	2	0	0	0	0	0	0
	0	1	3	3	3	2	0	0	0	0	0	0
	0	1	4	2	2	2	0	0	0	1	0	0
5	1	1	1	0	2	5	0	0	0	0	0	0
	1	0	2	2	2	3	2	0	0	0	0	0
	1	1	1	2	2	4	1	0	0	0	0	0
6	1	2	2	1	3	2	0	0	0	0	0	0
	1	1	1	1	2	2	0	0	0	0	0	0
	1	2	3	2	3	2	0	0	0	0	0	1

Tabla 21: Daño histológico de la mucosa en íleon (grados de Chiu)

GRUPOS	MEDIA	MEDIANA	IC	95%	Test de Levene (Valor p)	ANOVA (Valor p)	Kruskal Wallis (Valor p)	U Mann Whitney (Valor p)	Tukey y Dunnett (Valor p)
A1	0.83	1	0.58	1.09	0.196	0.970			
B1	0.83	1	0.44	1.22					
C1	0.89	1	0.41	1.37					
A2	0.72	1	0.31	1.13	0.088	0.000*		A2-B2	0.000**
B2	2.44	2	1.72	3.11				B2-C2	0.574
C2	2.78	3	2.22	3.33				C2-A2	0.000**
A3	0	0	0	0	0.000		0.125		
B3	0.22	0	-0.05	0.49					
C3	0.28	0	-0.01	0.56					
A4	0	0	0	0	0.000		0.000*	0.001**	A4-B4
B4	0.50	0.50	0.24	0.76				0.001**	B4-C4
C4	0	0	0	0				1	C4-A4

*Valor significativo a nivel <0.05

**Valor significativo a nivel < 0.017

Tabla 22: Parámetros y diferencias estadísticas del daño histológico de la mucosa en yeyuno (grados de Chiu).

GRUPOS	MEDIA	MEDIANA	IC 95%		Test de Levene (Valor p)	ANOVA (Valor p)	Kruskal Wallis (Valor p)	U Mann Whitney (Valor p)	Tukey y Dunnett (Valor p)
A1	0.89	1	0.60	1.18	0.042		0.024*	0.122	A1-B1
B1	1.33	1	0.85	1.82				0.266	B1-C1
C1	1.72	1	1.25	2.20				0.005**	C1-A1
A2	1.72	2	1.16	2.28	0.401	0.001*		A2-B2	0.066
B2	2.56	3	2.10	3.01				B2-C2	0.172
C2	3.17	3	2.57	3.76				C2-A2	0.000**
A3	0.17	0	-0.09	0.42	0.004		0.228		
B3	0	0	0	0					
C3	0.17	0	-0.02	0.36					
A4	0.22	0	-0.05	0.49	0.001		0.215		
B4	0	0	0	0					
C4	0.11	0	-0.05	0.27					

*Valor significativo a nivel <0.05

**Valor significativo a nivel < 0.017

Tabla 23: Parámetros y diferencias estadísticas del daño histológico de la mucosa en íleon (grados de Chiu).

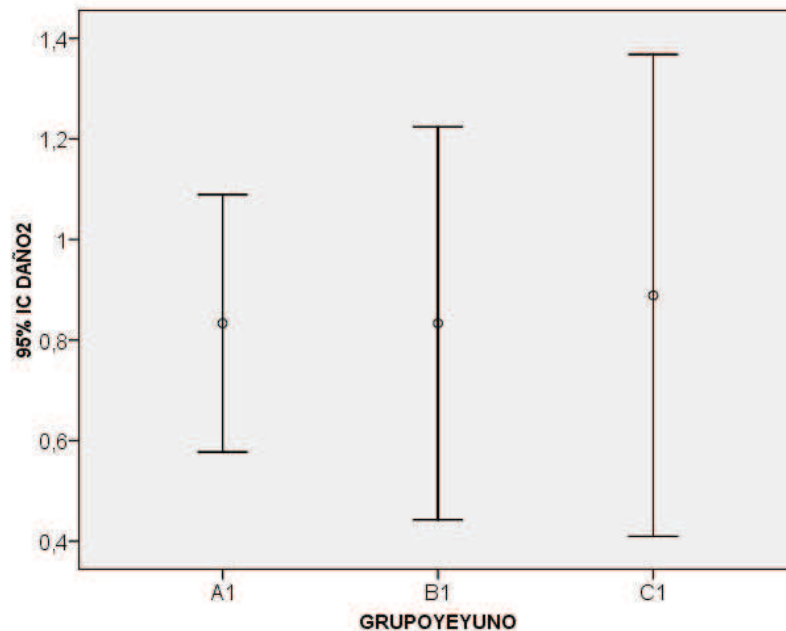


Figura 32: Daño histológico de la mucosa en yeyuno (grados de Chiu) (A1-B1-C1)

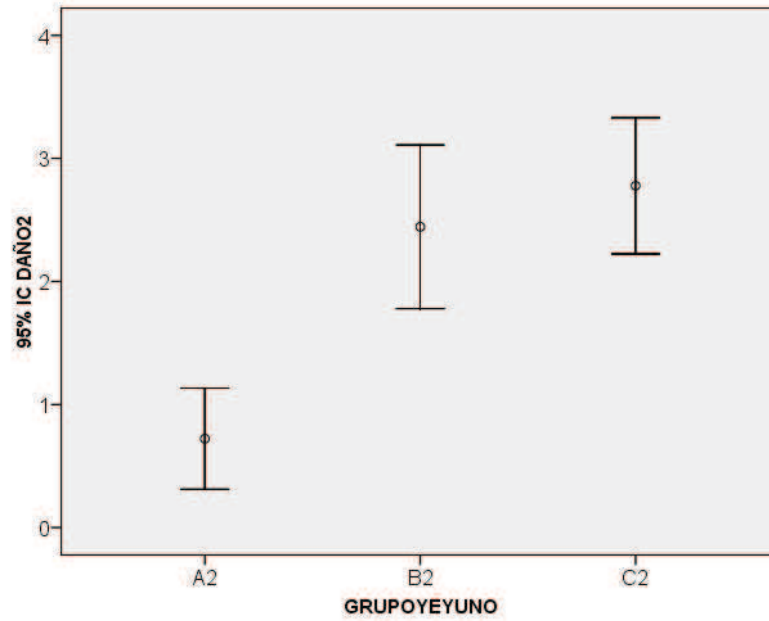


Figura 33: Daño histológico de la mucosa en yeyuno (grados de Chiu) (A2-B2-C2)

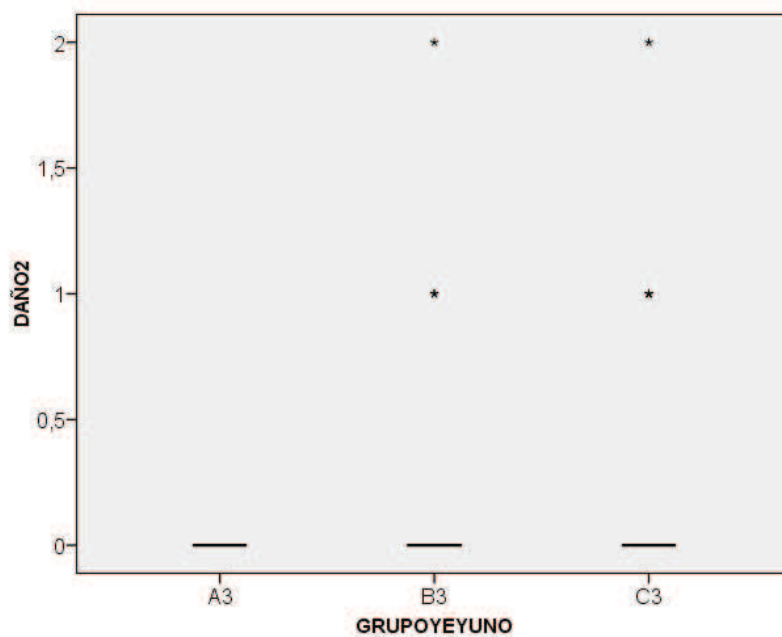


Figura 34: Daño histológico de la mucosa en yeyuno (grados de Chiu) (A3-B3-C3)

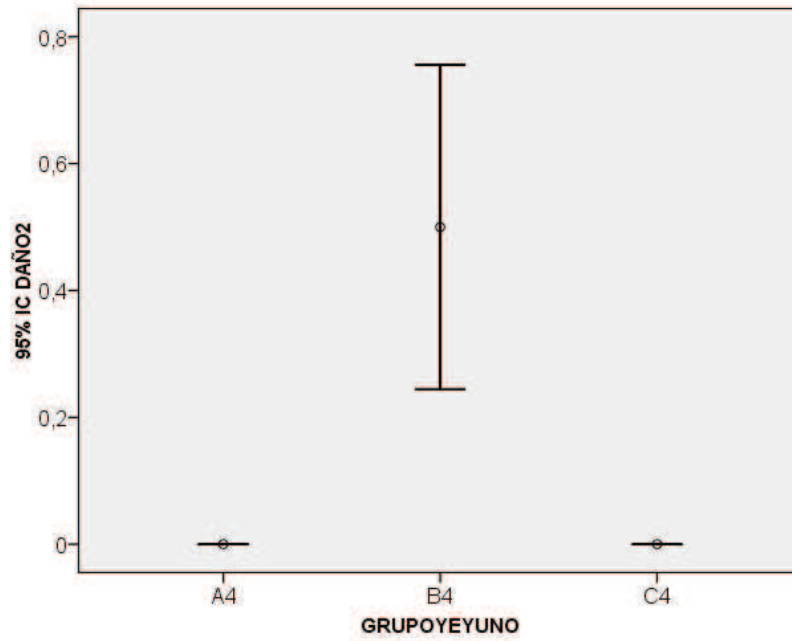


Figura 35: Daño histológico de la mucosa en yeyuno (grados de Chiu) (A4-B4-C4)

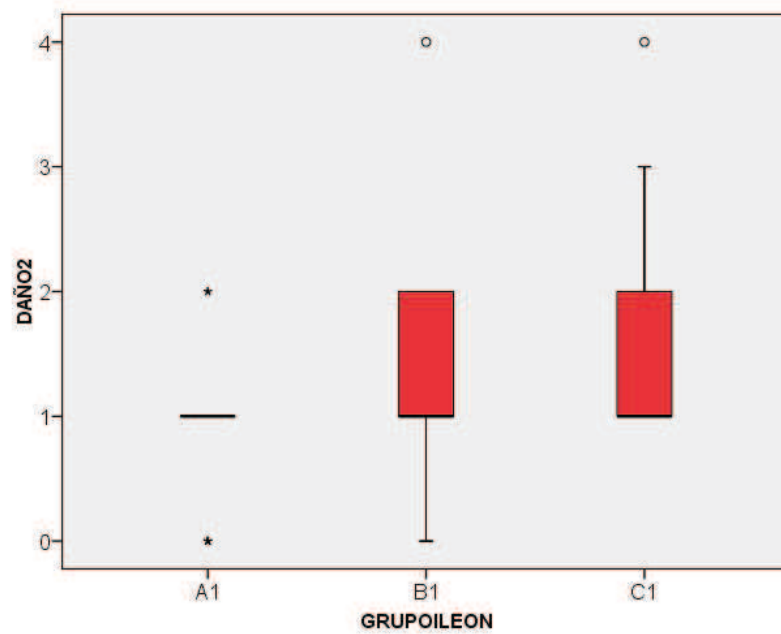


Figura 36: Daño histológico de la mucosa en íleon (grados de Chiu) (A1-B1-C1)

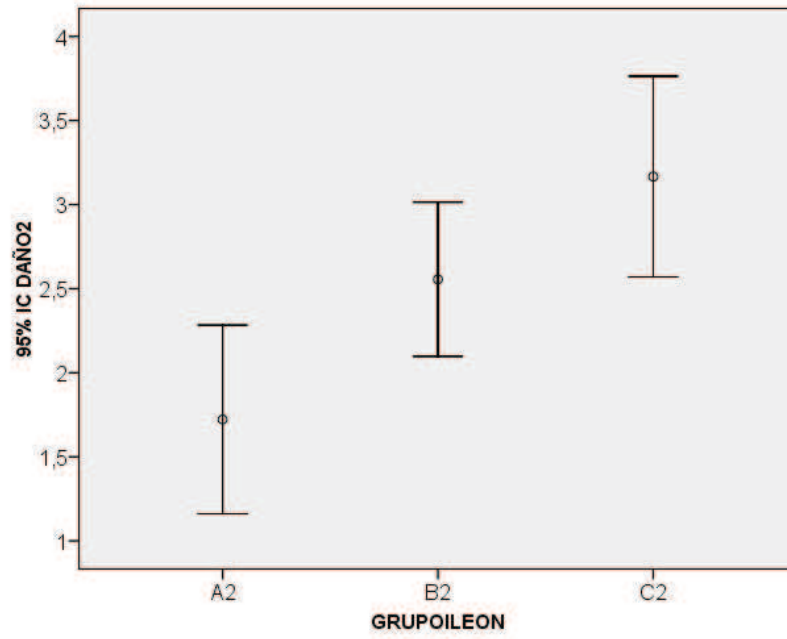


Figura 37: Daño histológico de la mucosa en íleon (grados de Chiu) (A2-B2-C2)

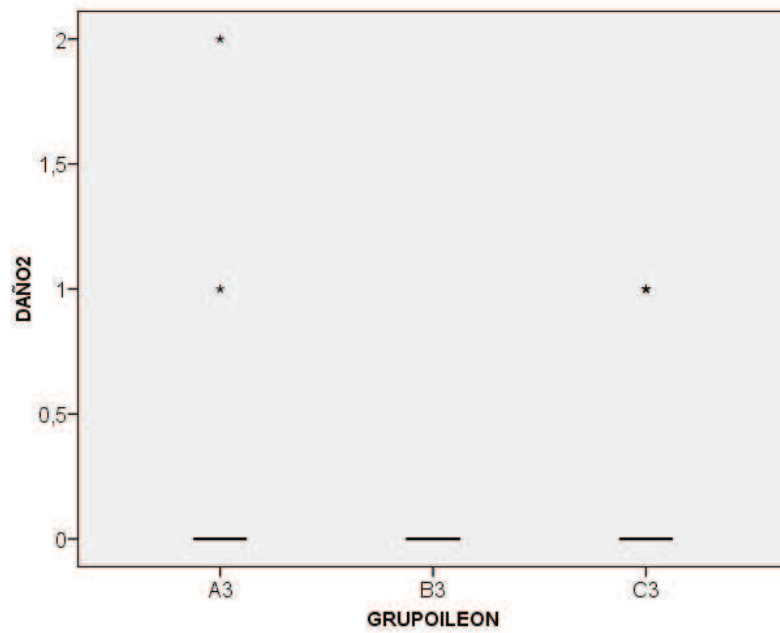


Figura 38: Daño histológico de la mucosa en íleon (grados de Chiu) (A3-B3-C3)

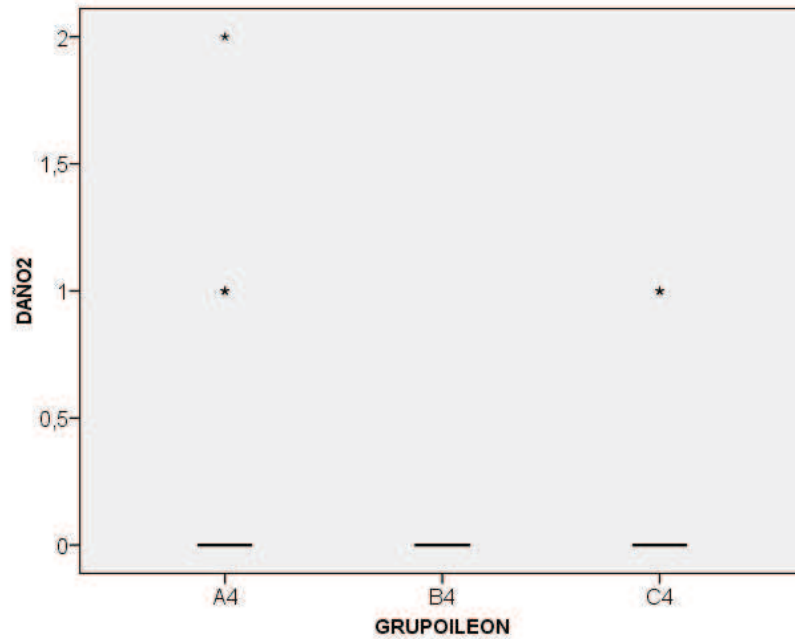


Figura 39: Daño histológico de la mucosa en íleon (grados de Chiu) (A4-B4-C4)

5.5. Grosor total de la pared intestinal

	A1	B1	C1	A2	B2	C2	A3	B3	C3	A4	B4	C4
1	578,79	936,85	712,54	524,58	442,29	661,43	714,31	665,03	614,32	712,62	724,94	739,68
	539,56	811,27	556,92	502,70	442,56	663,98	669,02	703,55	643,69	640,59	820,80	727,51
	683,86	893,92	602,28	497,13	329,53	638,74	706,07	657,20	724,24	685,34	704,55	681,98
2	647,05	655,94	596,50	514,77	493,14	652,88	886,42	644,09	687,14	852,68	575,78	730,61
	669,81	511,59	696,72	515,27	513,62	698,24	844,77	722,20	721,80	857,77	673,37	749,57
	665,02	644,54	542,18	587,21	494,73	527,83	812,09	656,83	626,78	762,67	705,02	634,72
3	569,61	906,19	533,32	691,06	508,30	439,97	679,85	750,43	630,74	884,30	617,24	732,78
	570,71	968,44	624,03	743,43	425,04	538,45	620,20	843,14	634,41	846,63	527,13	720,29
	716,43	983,70	668,04	648,17	438,18	571,26	645,79	718,29	522,55	866,22	605,78	856,38
4	560,04	535,02	645,02	590,18	431,71	410,55	683,43	673,10	517,60	575,55	739,69	596,86
	654,77	498,23	634,92	537,77	454,61	433,98	605,26	716,81	688,99	558,33	688,29	590,02
	584,92	522,43	601,35	628,74	475,59	548,05	645,28	716,01	767,99	630,61	727,87	711,80
5	600,98	646,93	885,33	542,20	456,66	448,44	727,35	616,18	765,12	606,15	730,29	724,04
	549,77	582,42	836,55	612,49	400,73	526,51	727,29	736,13	758,65	656,10	634,04	725,22
	654,83	567,23	629,05	625,24	439,55	489,74	653,49	695,91	757,84	628,08	773,31	699,91
6	914,04	774,84	582,34	742,85	447,06	676,81	607,42	543,56	512,95	516,38	704,56	670,34
	917,40	675,11	483,04	732,20	613,85	635,35	626,62	568,22	708,88	635,16	723,80	679,30
	876,32	609,98	600,96	655,17	553,25	625,21	572,60	610,74	689,27	633,56	708,35	688,80

Tabla 24: Grosor total de la pared intestinal de yeyuno (micras)

	A1	B1	C1	A2	B2	C2	A3	B3	C3	A4	B4	C4
1	461,01	433,68	575,48	435,61	503,26	471,10	440,04	427,31	479,55	520,74	414,04	496,12
	411,20	395,52	533,96	411,06	564,93	549,07	441,95	542,36	487,28	551,23	338,19	405,24
	381,76	565,32	512,84	339,57	528,18	526,30	392,85	390,90	487,08	461,99	366,26	482,11
2	421,23	385,84	510,00	450,36	379,59	381,46	590,74	533,64	465,92	534,41	523,43	589,36
	381,71	506,80	532,99	403,21	525,94	366,81	630,05	676,55	363,83	459,91	406,84	579,28
	319,09	583,29	383,02	448,02	397,07	474,38	614,41	500,37	483,23	479,32	409,18	575,68
3	451,94	683,43	403,23	502,89	461,15	652,60	576,73	566,73	519,08	423,96	558,82	372,47
	485,20	491,14	412,36	458,63	484,69	653,33	619,09	453,69	432,59	447,16	552,69	421,31
	563,82	490,43	384,84	505,32	505,01	564,17	557,72	575,49	442,42	362,16	555,54	414,46
4	457,24	384,49	383,84	528,58	366,10	533,44	618,67	411,59	349,41	552,12	492,83	432,24
	486,45	364,89	406,58	582,02	333,95	537,24	480,95	430,80	588,68	533,30	504,62	430,93
	455,30	394,72	535,60	561,31	343,52	486,80	607,91	505,76	351,47	481,15	500,68	432,96
5	463,35	447,96	471,28	457,76	472,20	517,08	627,01	457,92	604,06	685,43	415,41	444,79
	520,80	512,69	494,00	464,14	424,06	460,37	531,19	462,88	656,58	621,64	569,61	518,53
	464,13	494,66	461,84	409,73	472,52	434,29	513,68	448,02	590,57	601,58	396,89	442,13
6	462,24	389,18	600,28	375,53	543,17	390,44	607,83	387,41	377,03	455,62	413,25	521,25
	555,10	405,85	392,15	395,84	461,16	445,45	580,58	461,92	236,62	465,63	428,09	551,61
	590,42	431,30	615,62	352,51	755,23	473,50	562,24	371,71	410,30	510,55	441,73	539,55

Tabla 25: Grosor total de la pared intestinal de íleon (micras)

GRUPOS	MEDIA	MEDIANA	IC	95%	Test de Levene (Valor p)	ANOVA (Valor p)	Kruskal Wallis (Valor p)	U Mann Whitney (Valor p)	Tukey y Dunnett (Valor p)
A1	664.11	650.91	603.81	724.40	0.009		0.557		
B1	706.92	651.43	622.59	791.25					
C1	635.06	613.15	585.30	684.82					
A2	605.06	601.33	563.12	647.00	0.037		0.000*	0.000**	A2-B2
B2	464.47	450.83	433.94	494.99				0.002**	B2-C2
C2	565.97	559.65	519.12	612.81				0.376	C2-A2
A3	690.40	674.43	648.00	732.81	0.618	0.640			
B3	679.86	684.50	644.89	714.82					
C3	665.16	688.06	623.37	706.96					
A4	697.15	648.34	638.36	755.94	0.002		0.723		
B4	688.04	704.79	652.22	723.87					
C4	703.32	716.04	673.39	733.25					

*Valor significativo a nivel <0.05

**Valor significativo a nivel < 0.017

Tabla 26: Parámetros y diferencias estadísticas del grosor total de la pared intestinal en yeyuno (micras).

GRUPOS	MEDIA	MEDIANA	IC	95%	Test de Levene (Valor p)	ANOVA (Valor p)	Kruskal Wallis (Valor p)	U Mann Whitney (Valor p)	Tukey y Dunnett (Valor p)
A1	462.89	461.62	429.24	496.54	0.291	0.806			
B1	464.51	440.82	422.35	506.67					
C1	478.33	482.64	439.32	517.34					
A2	449.00	449.19	415.34	482.66	0.632	0.257			
B2	473.43	472.36	424.34	522.52					
C2	495.43	480.59	455.17	435.70					
A3	555.20	578.65	518.90	591.51	0.353	0.005*		A3-B3	0.028
B3	478.06	459.92	439.16	516.95				B3-C3	0.815
C3	462.54	472.73	409.64	515.44				C3-A3	0.005**
A4	508.22	495.85	469.88	546.55	0.905	0.149			
B4	460.45	434.91	424.49	496.41					
C4	480.56	463.45	446.97	514.14					

*Valor significativo a nivel <0.05

**Valor significativo a nivel < 0.017

Tabla 27: Parámetros y diferencias estadísticas del grosor total de la pared intestinal en íleon (micras).

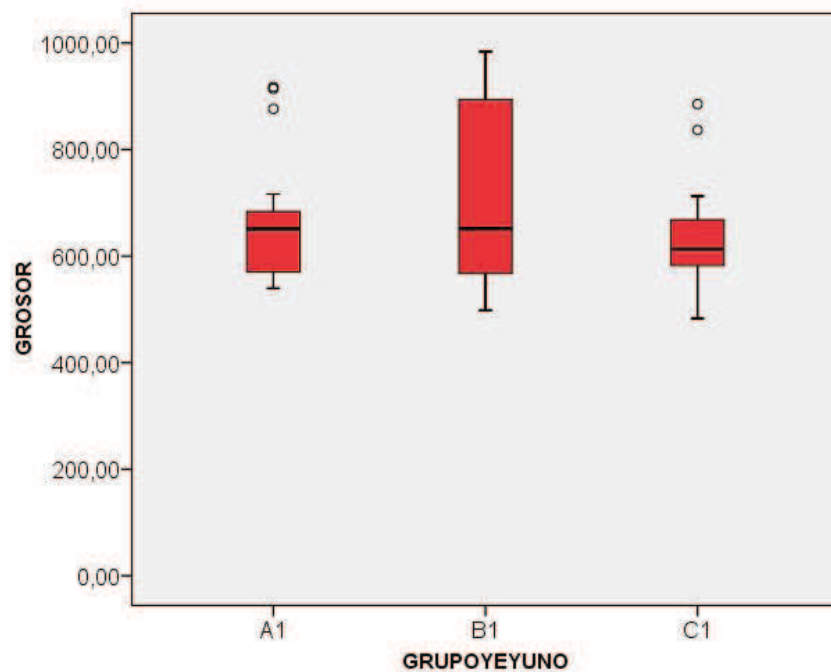


Figura 40: Grosor total de la pared intestinal en yeyuno (micras) (A1-B1-C1)

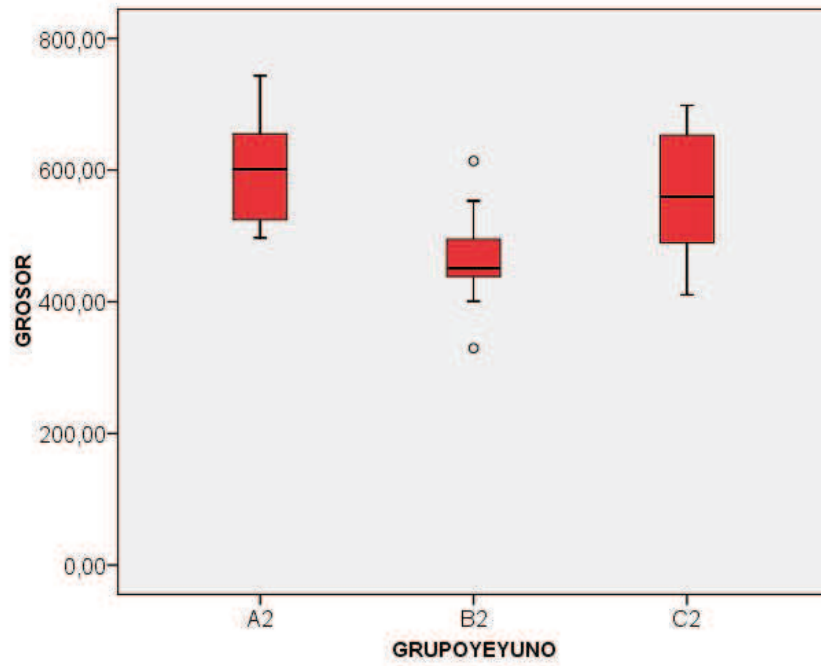


Figura 41: Grosor total de la pared intestinal en yeyuno (micras)
(A2-B2-C2)

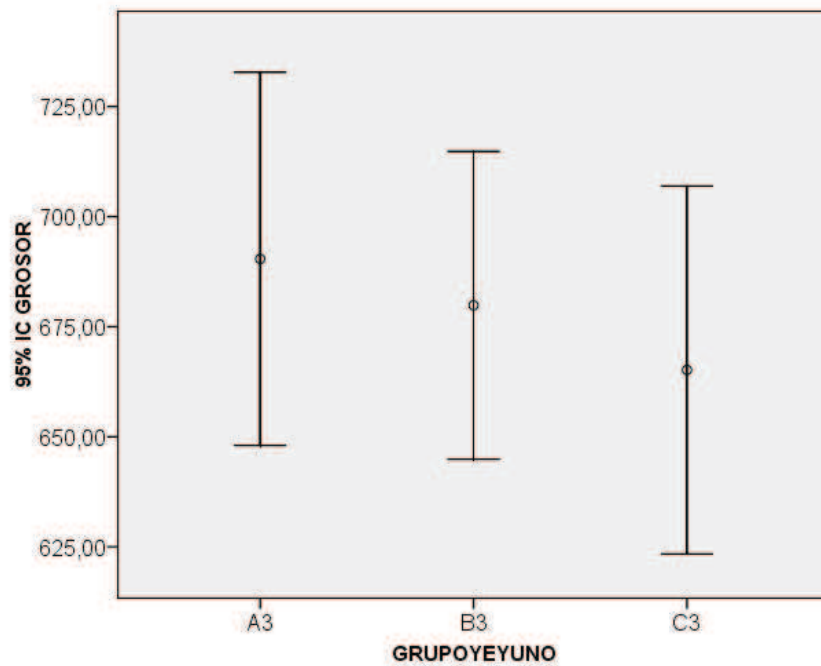


Figura 42: Grosor total de la pared intestinal en yeyuno (micras)
(A3-B3-C3)

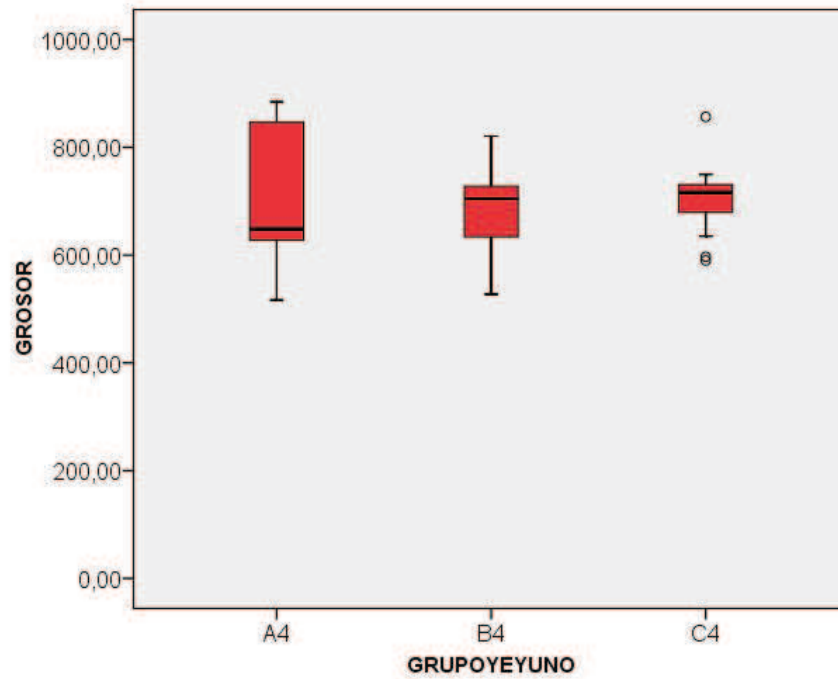


Figura 43: Grosor total de la pared intestinal en yeyuno (micras)
(A4-B4-C4)

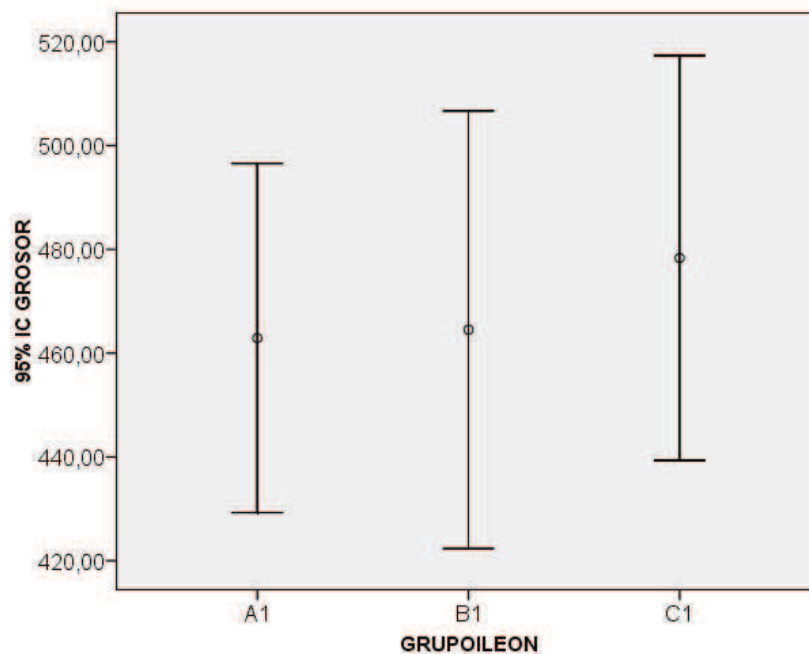


Figura 44: Grosor total de la pared intestinal en íleon (micras)
(A1-B1-C1)

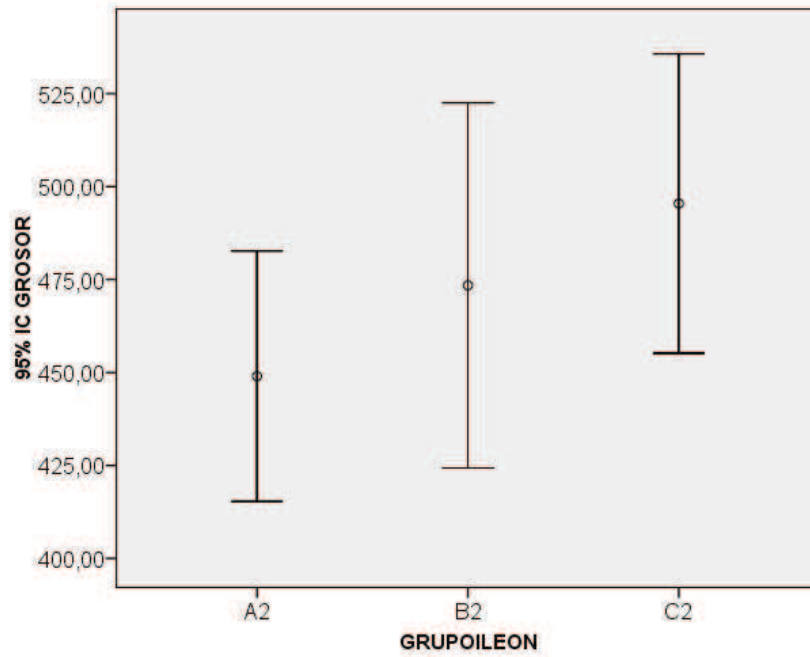


Figura 45: Grosor total de la pared intestinal en íleon (micras)
(A2-B2-C2)

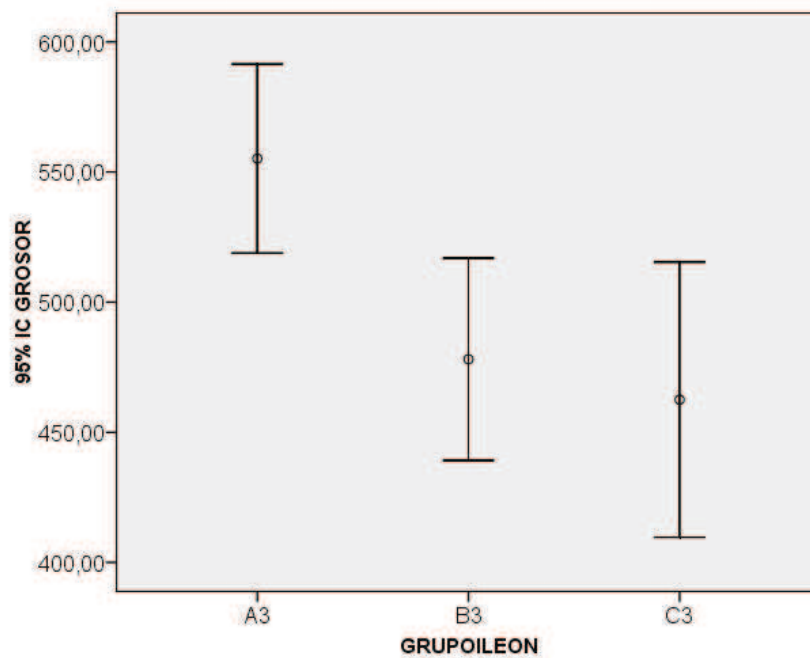


Figura 46: Grosor total de la pared intestinal en íleon (micras)
(A3-B3-C3)

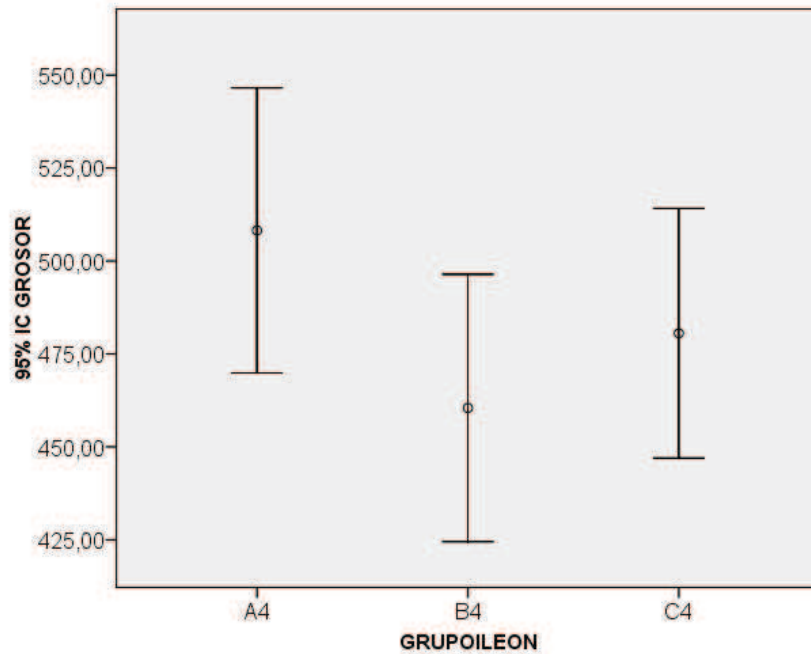


Figura 47: Grosor total de la pared intestinal en íleon (micras)
(A4-B4-C4)

5.6. Profundidad de criptas

	A1	B1	C1	A2	B2	C2	A3	B3	C3	A4	B4	C4
1	151,88	134,60	176,71	112,22	120,59	162,40	143,84	124,84	122,94	120,29	196,01	125,80
	138,22	142,20	126,22	122,06	96,44	190,05	145,51	155,65	138,40	150,65	174,32	151,34
	185,59	180,82	116,66	126,88	111,53	147,68	167,49	119,79	184,47	158,55	159,61	151,62
2	150,92	159,02	130,93	106,79	140,56	172,36	233,31	118,23	186,31	201,01	147,27	185,61
	164,57	151,04	170,72	94,41	128,65	190,78	177,88	134,99	179,32	141,87	135,51	186,10
	156,41	206,04	131,79	148,11	146,21	110,62	214,09	108,00	145,53	136,75	122,79	117,81
3	151,54	168,31	127,50	147,55	111,69	107,80	131,59	175,17	140,24	163,86	131,82	187,09
	155,68	179,73	119,00	184,42	106,37	130,85	131,05	159,88	144,02	183,21	124,66	228,70
	136,60	193,21	163,86	160,81	120,13	158,90	139,91	217,09	128,72	169,79	127,86	235,51
4	92,68	155,55	128,53	104,25	97,97	86,05	179,82	160,72	160,33	117,76	226,66	93,36
	146,74	150,26	137,65	133,70	133,53	121,17	90,30	112,54	147,61	105,12	181,39	112,37
	181,81	164,06	176,47	124,86	109,12	118,59	139,99	181,17	152,07	108,91	196,89	194,17
5	145,25	200,22	232,21	107,27	122,05	100,01	149,81	121,56	165,21	141,35	180,01	123,78
	145,21	110,81	123,70	97,27	147,62	137,75	140,15	118,87	154,99	134,68	126,91	136,82
	124,42	166,38	140,01	99,73	135,91	113,74	133,69	153,20	210,41	149,78	167,81	144,09
6	243,56	158,70	125,00	100,66	143,07	130,08	131,16	102,60	118,32	94,08	131,08	138,76
	204,45	108,19	89,76	166,63	174,08	130,10	150,97	76,41	144,94	109,13	156,46	142,22
	184,94	129,72	106,47	129,30	155,55	136,32	132,26	129,26	124,35	156,58	142,40	153,81

Tabla 28: Profundidad de criptas de yeyuno (micras)

	A1	B1	C1	A2	B2	C2	A3	B3	C3	A4	B4	C4
1	112,63	149,47	145,50	140,54	118,03	103,79	108,99	102,88	140,44	134,64	111,39	138,49
	100,67	141,93	132,63	67,67	151,65	172,41	93,40	150,26	96,23	158,85	90,62	152,99
	103,39	168,14	116,93	89,76	109,01	138,21	133,06	119,69	136,60	125,44	91,84	164,09
2	123,68	134,14	161,10	127,13	118,53	121,23	157,91	180,37	130,11	126,21	120,43	147,53
	79,94	187,16	126,66	123,44	134,57	124,24	207,30	193,04	115,71	126,94	91,14	167,95
	108,81	215,42	88,06	128,87	117,86	99,19	186,10	128,45	136,02	108,52	77,55	144,81
3	123,33	154,68	99,86	153,30	128,38	141,06	140,15	127,14	152,86	126,60	147,96	106,47
	159,63	137,93	93,12	171,93	114,51	170,71	154,79	160,62	117,31	119,79	136,03	81,94
	157,61	155,07	114,59	135,92	115,65	163,56	121,67	176,36	127,00	120,09	120,44	124,94
4	136,03	85,14	93,77	149,81	89,45	141,81	166,99	122,71	99,80	145,40	142,26	97,35
	133,62	86,59	107,80	173,78	92,12	151,68	136,07	115,66	202,09	140,62	139,78	92,20
	82,06	117,30	110,26	166,64	99,25	163,20	183,99	117,24	80,59	150,15	141,65	123,68
5	137,97	157,52	102,71	112,13	113,97	109,98	170,47	97,57	154,31	153,30	120,87	87,62
	132,18	115,40	130,65	146,69	152,10	158,35	147,09	125,06	191,26	174,79	131,39	138,16
	146,20	124,52	131,53	133,46	164,74	136,86	115,78	98,38	170,36	181,52	95,00	134,91
6	157,34	119,01	164,70	129,55	149,74	103,79	217,52	113,31	114,76	85,87	152,99	165,06
	207,81	123,28	92,00	99,13	118,55	116,48	157,26	112,07	87,96	124,94	86,32	140,58
	189,31	113,87	187,20	100,06	195,49	117,17	122,79	76,18	88,21	108,12	90,86	145,82

Tabla 29: Profundidad de criptas de íleon (micras)

GRUPOS	MEDIA	MEDIANA	IC	95%	Test de Levene (Valor p)	ANOVA (Valor p)	Kruskal Wallis (Valor p)	U Mann Whitney (Valor p)	Tukey y Dunnett (Valor p)
A1	158.91	151.71	142.56	175.27	0.873	0.127			
B1	158.82	158.86	145.10	172.55					
C1	140.18	129.73	123.79	156.56					
A2	125.94	123.46	112.81	139.07	0.464	0.482			
B2	127.84	125.35	117.40	138.27					
C2	135.85	130.47	121.10	150.59					
A3	151.82	141.99	135.41	168.23	0.471	0.247			
B3	137.22	127.05	120.49	153.95					
C3	152.68	146.57	140.37	164.99					
A4	141.30	141.61	127.02	155.58	0.368	0.282			
B4	157.19	151.86	142.15	172.24					
C4	156.05	147.71	136.57	175.53					

Tabla 30: Parámetros y diferencias estadísticas de la profundidad de las criptas en yeyuno (micras).

GRUPOS	MEDIA	MEDIANA	IC 95%	Test de Levene (Valor p)	ANOVA (Valor p)	Kruskal Wallis (Valor p)	U Mann Whitney (Valor p)	Tukey y Dunnett (Valor p)
A1	132.90	132.90	116.10 149.70	0.886	0.311			
B1	138.14	136.03	121.89 154.39					
C1	122.17	115.76	108.20 136.14					
A2	130.54	131.50	116.22 144.87	0.968	0.647			
B2	126.87	118.28	113.43 140.30					
C2	135.21	137.53	123.13 147.28					
A3	151.18	150.94	134.43 167.94	0.885	0.086			
B3	128.72	121.20	113.08 144.37					
C3	130.09	128.55	112.82 147.36					
A4	133.99	126.77	122.11 145.87	0.673	0.085			
B4	116.03	120.43	103.79 128.27					
C4	130.81	138.32	117.26 144.36					

Tabla 31: Parámetros y diferencias estadísticas de la profundidad de las criptas en íleon (micras).

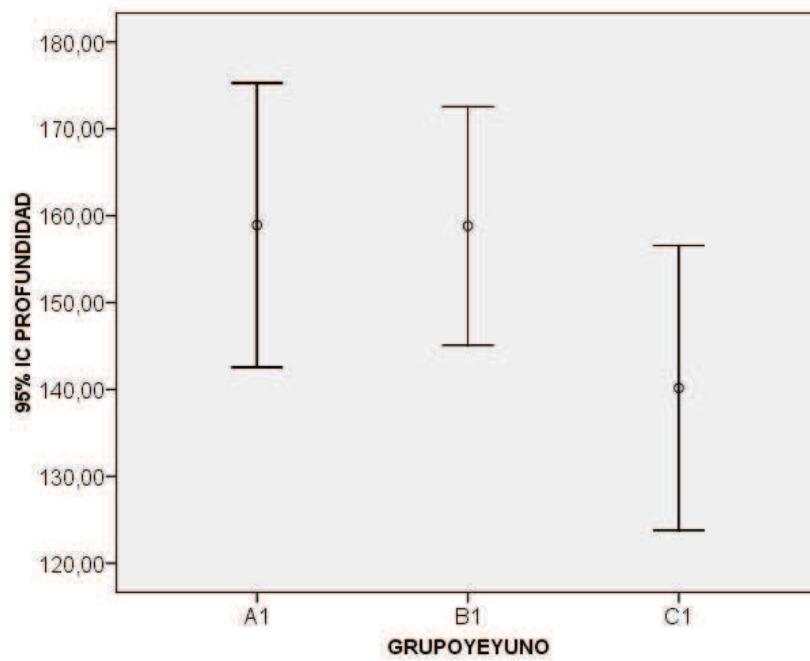


Figura 48: Profundidad de las criptas en yeyuno (micras) (A1-B1-C1)

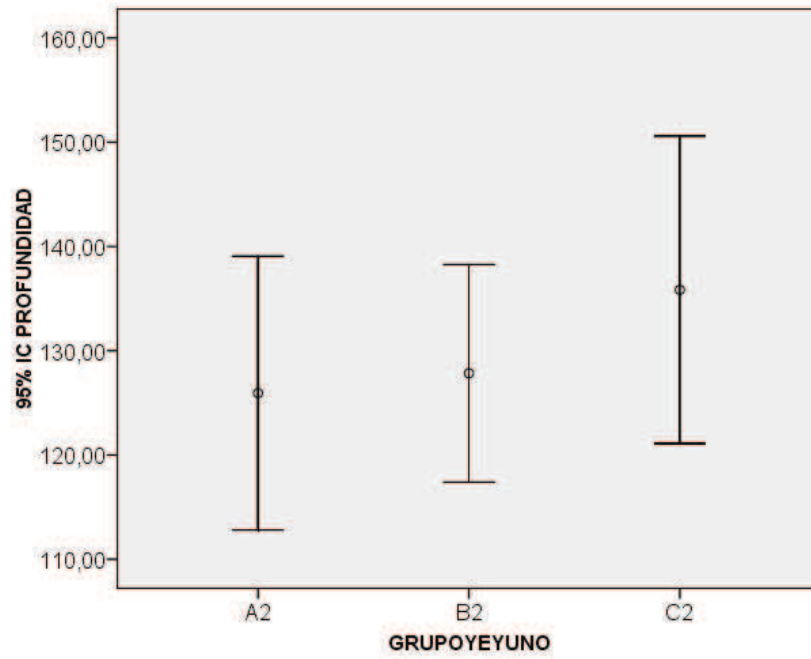


Figura 49: Profundidad de las criptas en yeyuno (micras) (A2-B2-C2)

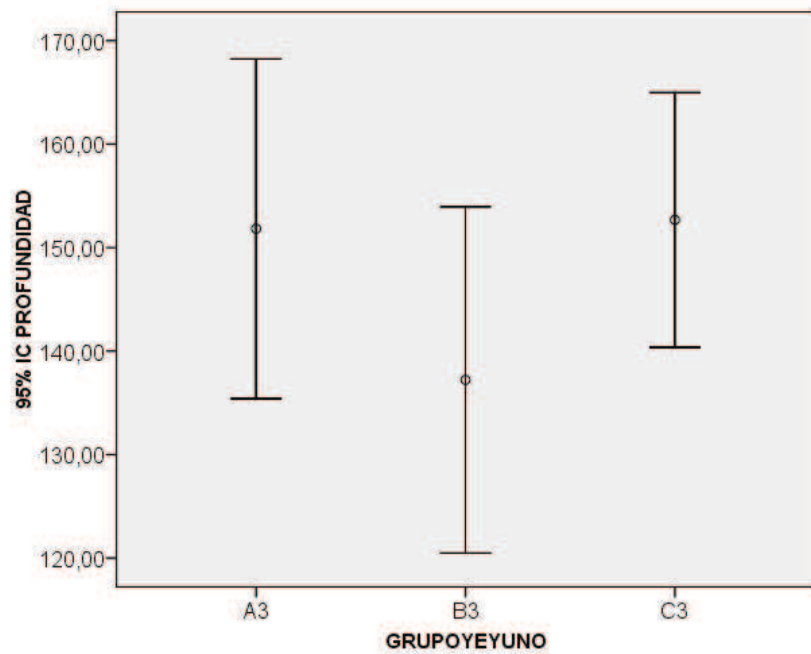


Figura 50: Profundidad de las criptas en yeyuno (micras) (A3-B3-C3)

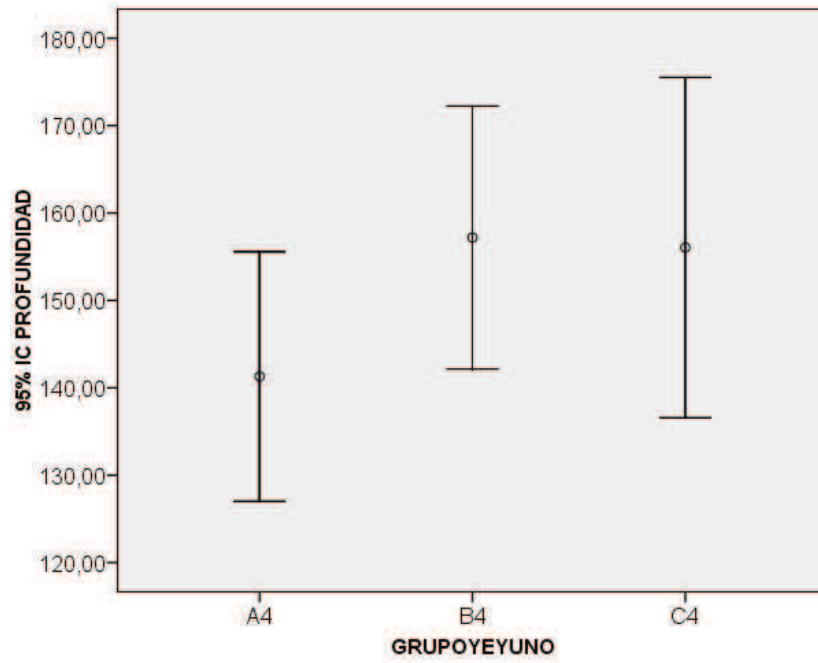


Figura 51: Profundidad de las criptas en yeyuno (micras) (A4-B-C4)

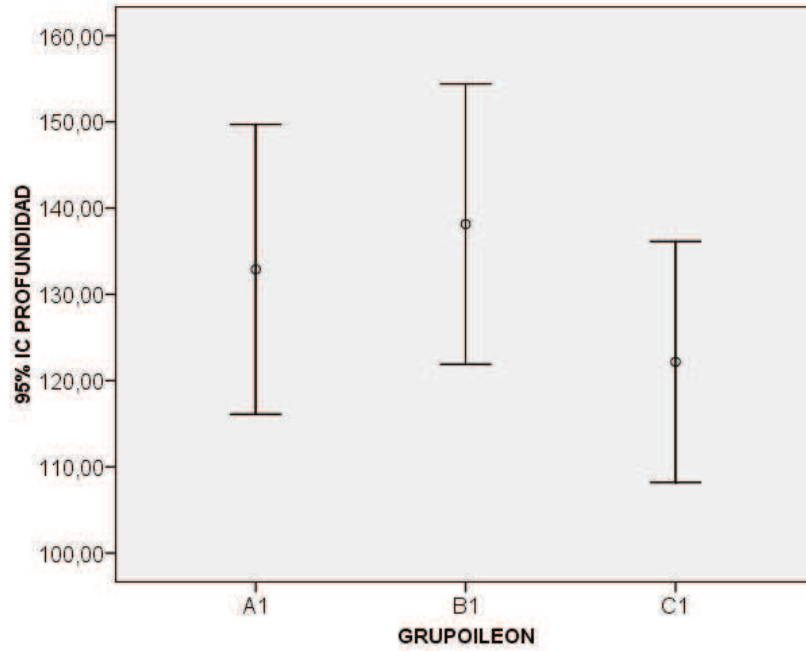


Figura 52: Profundidad de las criptas en íleon (micras) (A1-B1-C1)

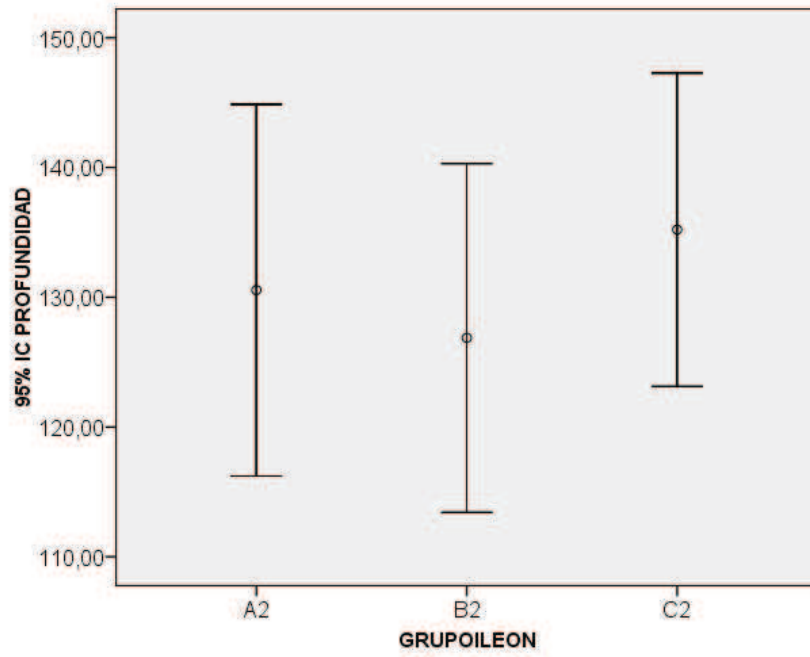


Figura 53: Profundidad de las criptas en íleon (micras) (A2-B2-C2)

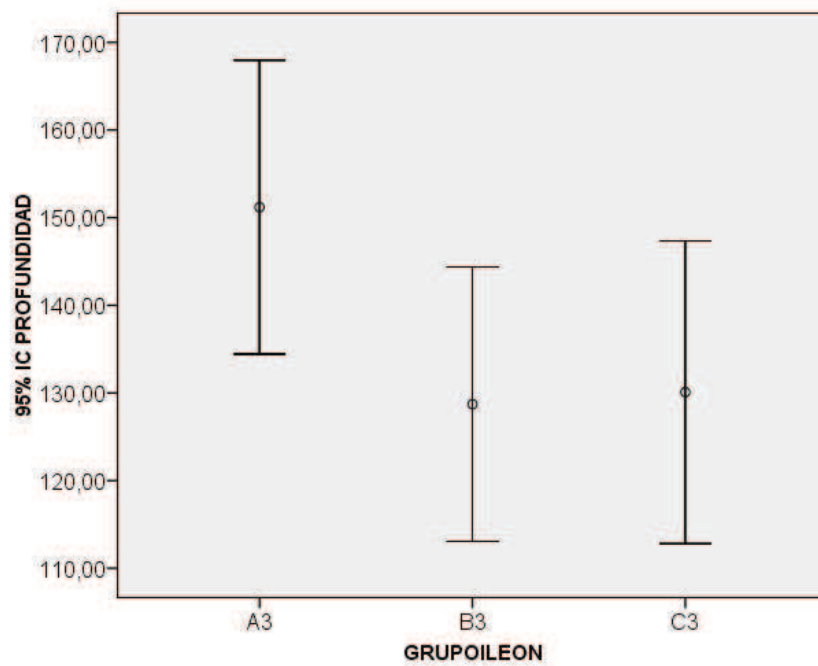


Figura 54: Profundidad de las criptas en íleon (micras) (A3-B3-C3)

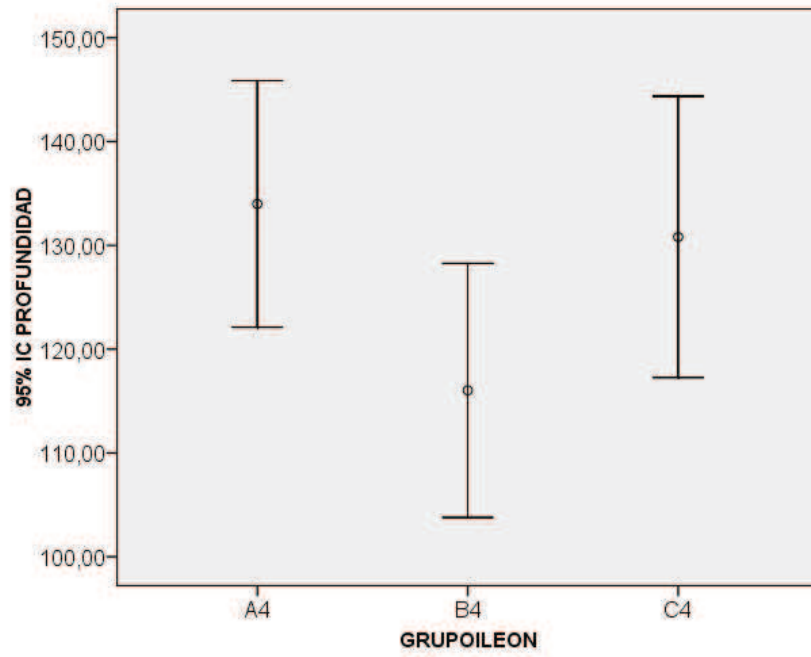


Figura 55: Profundidad de las criptas en íleon (micras) (A4-B4-C4)

DISCUSSION

6. DISCUSION

6. 1 Discusión del modelo experimental

6. 1. 1. Justificación del animal de experimentación.

La rata Wistar ofrece unas características ideales para ser utilizada en modelos experimentales de isquemia intestinal. A las características generales de la especie como son su reducido coste y su fácil manejo y mantenimiento en cautividad, hay que añadir las características anatómicas de su aparato digestivo, muy similares a las de la especie humana ⁽³⁵⁾.

Macroscópicamente, el intestino delgado de la rata se divide en duodeno, yeyuno e íleon. Al igual que en el hombre, el duodeno es retroperitoneal 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 ^(16, 17).

El aporte 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 ^(14, 15).

La inmensa mayoría de las investigaciones realizadas hasta el momento, han sido llevadas a cabo empleando a la rata como animal de experimentación ⁽⁷⁷⁻⁸⁰⁾. No obstante, alguna publicación ha empleado al perro ^(68-70, 164-167), ratón ⁽¹⁶⁰⁾ y el conejo ^(72-74, 106, 168) para el estudio de la isquemia-reperusión intestinal.

6. 1. 2. Justificación del modelo de isquemia-reperusión.

Las isquemias intestinales capaces de provocar una lesión lo suficientemente importante como para que tenga relevancia clínica, son aquellas en las que se ve comprometido el aporte sanguíneo de una gran parte del intestino delgado o de la totalidad del mismo. Estas ocurren por obstrucción de un vaso principal en su origen, generalmente de la arteria mesentérica superior, habitualmente por una embolia. El mecanismo fisiopatológico es una obstrucción brusca del flujo sanguíneo, al quedar enclavado el émbolo en el origen de la arteria y posteriormente una desobstrucción también brusca en el transcurso de unas horas cuando se aplican las medidas terapéuticas adecuadas⁽¹⁶⁹⁾.

El uso de la oclusión de la arteria mesentérica seguida de reperusión, se trata de un modelo de daño intestinal bien establecido, causando una oclusión vascular aguda como la que ocurre tras embolismo o trombosis. La isquemia-reperusión intestinal posee la ventaja añadida de poseer una mayor relevancia fisiopatológica que la administración de agentes tóxicos, como la tioacetamida⁽¹⁶⁶⁾, puesto que las alteraciones provocadas por citoquinas proinflamatorias y radicales libres endógenos son mayores que el daño provocado por el metabolismo de un agente tóxico externo.

La isquemia intestinal y el daño por reperusión subsecuente, se encuentran en una variedad de condiciones clínicas, incluyendo shock hipovolémico, estrangulación-obstrucción, angioplastia coronaria, bypass cardiopulmonar, cirugía aórtica abdominal y trasplantes. Sin embargo, existen algunas condiciones quirúrgicas en las que se puede encontrar una oportunidad para tratar el daño por isquemia-reperusión intestinal previamente a la isquemia, como son las intervenciones quirúrgicas vasculares (reparación de aneurismas aórticos abdominales o reparación de traumatismos vasculares) o trasplantes de órganos. De tal forma, el

modelo de clampaje de la arteria mesentérica superior en su origen mediante clamp atraumático y su posterior desclampaje brusco, representa la máxima similitud con estos procesos clínicos de isquemias intestinales masivas, responsables de la alta tasa de mortalidad.

6. 1. 3. Justificación de las técnicas de microscopía.

La regeneración de la mucosa intestinal se produce desde el fondo de las criptas hacia la punta de la vellosidad ⁽¹⁷⁰⁾. El tiempo aproximado de migración de una célula desde la cripta, al extremo de la vellosidad es de siete días. Los trabajos publicados que evalúan la regeneración de la mucosa tras la isquemia, realizan análisis de los cambios histológicos mediante microscopía óptica. La tinción empleada en los estudios es la hematoxilina-eosina. La medición de la longitud de la vellosidad y de la profundidad de las criptas constituye un buen método para valorar la regeneración. Durante las primeras fases de la isquemia se produce un incremento de permeabilidad capilar con una extravasación de líquido, apareciendo hemorragias vellositarias y edema de la pared. El grosor total de la pared sería entonces un buen método de evaluar este edema de la mucosa.

La escala de Chiu et al. ⁽⁹⁴⁾ se considera, desde su publicación en 1970, la herramienta de referencia para la valoración del daño histológico a nivel intestinal. Su división en 5 grados resulta más sencilla y de una mayor correlación histopatológica estricta que los 8 de la clasificación de Park et al. de 1990 ⁽⁹⁵⁾, la cual fue establecida tras estudios de isquemia intestinal con estrangulación venosa, o la de Zingarelli de 2001 ⁽¹⁷¹⁾, con una limitada aceptación. La mayoría de los estudios publicados al respecto, realizan sus exámenes histológicos según la clasificación de Chiu ^(167, 172,173, 174).

6. 1. 4. Justificación de las sustancias a estudiar.

A) Cilostazol

El cilostazol es un inhibidor de la fosfodiesterasa tipo III. A través de esta acción, aumentan los niveles de AMP cíclico intracelular, lo que conlleva inhibición de la agregación plaquetaria, cambios en la forma de plaquetas y disminución de la formación de trombos. Además el cilostazol induce vasodilatación, a través del óxido nítrico del endotelio, disminuye la proliferación de las células de la capa íntima y media de las arterias, aumenta la lipoproteína lipasa pancreática, produciendo un aumento de las lipoproteínas de alta densidad y disminuye las reestenosis secundarias a la implantación de stent metálico coronario percutáneo. ⁽¹⁴⁴⁻¹⁵⁷⁾

Toshiaki et al. ⁽¹⁶⁰⁾, en un modelo de isquemia-reperfusión intestinal en ratones tratados con cilostazol, demostró una menor adhesión leucocitaria al endotelio, seguido de un menor grado de daño endotelial. Histológicamente, solo valora la relación entre la altura de la vellosidad y la profundidad de la cripta. Este es el único estudio que aparece en la literatura sobre el empleo de cilostazol en un modelo isquemia-reperfusión intestinal.

En base a los efectos beneficiosos del cilostazol en los múltiples modelos de isquemia-reperfusión en diferentes órganos (corazón, cerebro,...), ^(144, 145, 158, 159) decidimos emplear dicho fármaco en nuestro estudio de isquemia-reperfusión intestinal en ratas y comparar su efecto, en los cambios estructurales de la mucosa intestinal, con otro fármaco, amlodipino.

La dosis empleada de cilostazol, en nuestro estudio, se decide en base a otros modelos de isquemia-reperfusión, que emplean la misma dosis ^(159,161), vía de administración ^(159,160,161), y en el mismo momento antes de instaurar la isquemia ⁽¹⁶⁰⁾, con resultados satisfactorios a favor del tratamiento con cilostazol.

B) Amlodipino

El amlodipino es un antagonista de los canales del calcio del grupo de las dihidropiridonas de tercera generación. El amlodipino presenta actividad antioxidante y selectividad vascular. Además, inhibe la peroxidación lipídica, aumenta la cantidad de óxido nítrico, reduce la oxidación de lipoproteínas de baja densidad y preserva la actividad superóxido dismutasa. ⁽¹³⁴⁾

El amlodipino ha demostrado la protección de órganos como el cerebro, el corazón, el hígado y el ovario del daño producido por isquemia-reperfusión ⁽¹³⁵⁻¹⁴⁰⁾. El amlodipino se une a los canales de calcio tipo L del músculo liso, produciendo una relajación vascular al inhibir la entrada de calcio dentro de las células. Esa vasodilatación es dependiente del endotelio vascular. Pero, por otra parte, el amlodipino aumenta la biodisponibilidad del óxido nítrico por la célula endotelial de dos maneras diferentes, contribuyendo también a la vasodilatación: ⁽¹⁷⁵⁾

- Aumentando la liberación de óxido nítrico por un aumento en la expresión de e-NOS
- Disminuyendo la degradación del óxido nítrico.

La dosis empleada de amlodipino en nuestro estudio, se decide basándonos en otros modelos de isquemia-reperfusión, que emplean la misma dosis, vía de administración y momento de administración previo a la isquemia ⁽¹⁴⁰⁾.

La restauración incompleta del flujo sanguíneo tras la isquemia puede ser una contribución importante al daño causado por la isquemia-reperfusión intestinal. La obstrucción de la microvascularización por vasoconstricción es uno de los posibles factores que explican esta reducción en el aporte sanguíneo. También existe una disminución del flujo de sangre durante la reperfusión, coincidiendo con un aumento de la resistencia vascular ⁽¹⁷⁶⁾. Los fármacos empleados en este estudio, por sus efectos vasodilatadores, pueden tener efectos beneficiosos en la isquemia-reperfusión intestinal.

6.2 Discusión de los resultados

6. 2. 1. Altura de la vellosidad.

Histológicamente, se observa que en los grupos de isquemia-reperfusión existe una disminución de la altura de las vellosidades respecto a los grupos de intervención Sham. Existen trabajos que demuestran una disminución de la altura de las vellosidades en los grupos de isquemia- reperfusión de hasta un 45%. ^(97, 177, 178). Wagner et al ⁽⁹⁷⁾, encuentra una fase de incremento de altura a los 3 días de la reperfusión, normalizándose en torno a la semana.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio, demuestran como la altura de las vellosidades del yeyuno e íleon están disminuidas en todos los grupos en los que se realiza isquemia-reperfusión intestinal, respecto a la intervención Sham. Aquellos a los que se les administra amlodipino, y son sometidos a 30 minutos de isquemia mantienen mayor altura de las vellosidades en yeyuno. Sin embargo, los grupos sometidos a 60 minutos de isquemia y que reciben cilostazol mantienen mayor altura de las vellosidades de yeyuno. En cualquier caso no existen diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo que se administra suero fisiológico. En el íleon, los grupos a los que se administran los fármacos no presentan ninguna mejoría de la altura de las vellosidades en relación a la administración de suero fisiológico.

6.2.2. Anchura de la vellosidad.

El engrosamiento de la vellosidad podría explicarse por el cúmulo de las dos capas epiteliales, la necrótica a punto de desprenderse y la nueva capa epitelial empujando los restos necróticos. También puede influir el mecanismo de contracción de las vellosidades que intenta minimizar la superficie desnuda a cubrir. ^(97, 179)

En nuestro estudio, se observa que la anchura de las vellosidades es mayor en los grupos de isquemia-reperfusión respecto a los grupos sometidos a intervención Sham. La anchura de las vellosidades de yeyuno en los grupos de tratamiento es menor que en los grupos a los que se administra suero fisiológico, sin obtener diferencias estadísticamente significativas. En el caso de la anchura de las vellosidades del íleon, existe mayor

engrosamiento en los grupos tratados con cilostazol y amlodipino que en los tratados con suero fisiológico.

6.2.3. Daño histológico de la mucosa

El tratamiento con cilostazol confiere una protección estadísticamente significativa ($p < 0.000$) para el daño histológico del yeyuno en los grupos de isquemia de 60 minutos, respecto al grupo de tratamiento con suero fisiológico y amlodipino.

En el íleon, el daño histológico de la mucosa es significativamente menor para el cilostazol que para el grupo control ($p < 0.005$). No existen diferencias estadísticamente significativas entre ambos fármacos, pero si observamos que en todos los grupos, la media del daño histológico es menor en el grupo de tratamiento con cilostazol que en los tratados con amlodipino y, a su vez, en este menor que en tratados con suero fisiológico.

6. 2. 4. Grosor de la pared intestinal

Al aumentar el daño histológico sobre la pared intestinal, incrementa el edema. No obstante el factor que más influye sobre el grosor de la pared es la altura de la vellosidad. Por consiguiente, el valor total del grosor de la pared varía en el mismo sentido que la altura de la vellosidad. En nuestro estudio, al igual que en la altura de las vellosidades, encontramos una disminución del grosor total de la pared en los grupos de isquemia, respecto a los grupos sometidos a intervención Sham.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos ni en yeyuno ni en íleon, pero podemos destacar que en cuanto al grosor de la pared del yeyuno, el cilostazol y el amlodipino mantienen mayor grosor que el grupo tratado con suero fisiológico tras isquemia de 30 minutos. Además el cilostazol también mantiene mayor grosor total de la pared del yeyuno, respecto al grupo tratado con suero fisiológico en el grupo de isquemia de 60 minutos.

6.2.5. Profundidad de las criptas.

Existen trabajos que demuestran una disminución de la profundidad de las criptas en los grupos de isquemia- reperusión intestinal ⁽¹⁷⁷⁾. En nuestro estudio también observamos estas diferencias entre los grupos de isquemia-reperusión y los sometidos a intervención Sham. La profundidad de las criptas en los sujetos tratados con cilostazol y amlodipino fue superior a la de los grupos a los que se administró suero fisiológico, cuando se realizaban isquemias de 30 minutos tanto en yeyuno como en íleon, no obstante, no alcanzaron diferencias estadísticamente significativas. En los grupos de isquemia de 60 minutos, la profundidad de las criptas fue similar en todos los grupos de tratamiento.

6.3 Resumen de la discusión

La rata Wistar constituye un modelo experimental perfectamente establecido en estudios de patología intestinal. A parte de sus ventajas generales de utilización en comparación con

otros animales, como son el coste reducido, la fácil manipulación, mantenimiento en cautividad y el ser muy prolíficos y con una madurez precoz, las semejanzas con el ser humano en cuanto a anatomía, histología y fisiología intestinal, la hacen referencia de este tipo de investigaciones. ^(16,17, 35)

La isquemia intestinal continúa constituyendo una causa común de morbilidad y mortalidad en pacientes hospitalizados. La pérdida de oxígeno es más severa a nivel de la mucosa y una vez que ocurre la reperfusión, los reactivos de oxígeno son origen de un mayor daño histológico y funcional. La reparación del epitelio intestinal comienza nada más terminar el periodo de isquemia, a través de la proliferación y migración de células de las criptas hacia las vellosidades. Este proceso es mediado por una compleja interacción de hormonas, factores de crecimiento y citoquinas. El modelo de oclusión brusca de la arteria mesentérica superior en su origen mediante clamp atraumático y su retirada posterior, representa la máxima similitud con los procesos clínicos de isquemias intestinales masivas, responsables de la alta tasa de mortalidad ^(166, 169).

El cilostazol y el amlodipino, con sus efectos vasodilatadores, a través del óxido nítrico, y otros efectos como la antiagregación plaquetaria, la menor adhesión de los leucocitos al endotelio, la acción antioxidante, ha demostrado sus propiedades terapéuticas en la isquemia-reperfusión de tejidos como el corazón, el hígado, el cerebro y el ovario ^(135, 138, 139, 140, 144, 158, 159).

En nuestro estudio, se demuestra que el cilostazol presenta un efecto protector en cuanto al daño histológico de la mucosa, con resultados estadísticamente significativos respecto al grupo tratado con suero fisiológico.

El tratamiento con amlodipino y cilostazol, demuestra cierto beneficio respecto al grupo tratado con suero fisiológico en los parámetros morfométricos de yeyuno en aquellos grupos sometidos a isquemias de 30 y 60 minutos, aunque sin obtener resultados estadísticamente significativos.

En las muestras de íleon, observamos que los fármacos, prácticamente, no producen ningún cambio sobre los diferentes parámetros morfométricos en relación con el grupo tratado con suero fisiológico, salvo alguna excepción.

En conclusión, sería recomendable realizar futuros estudios con estos fármacos, con diferentes dosis, momento de administración y diferentes tiempos de isquemia-reperfusión para valorar posibles efectos en los parámetros morfométricos objeto de estudio.

CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

1. Tras periodos de 30 y 60 minutos de isquemia, seguidos de una hora de reperfusión, se producen daños histológicos en el intestino.
2. El cilostazol presenta un efecto protector en cuanto al daño histológico de la mucosa del intestino, con resultados estadísticamente significativos respecto al grupo tratado con suero fisiológico.
3. El tratamiento con cilostazol disminuye, en la mayoría de los casos, los cambios morfométricos en yeyuno que se producen tras periodos de 30 y 60 minutos de isquemia, seguidos de una hora de reperfusión, no ocurriendo lo mismo a nivel del íleon.
4. El tratamiento con amlodipino disminuye, en ciertos casos, las alteraciones morfométricas de yeyuno que se producen tras periodos de isquemia, principalmente de 30 minutos, seguidos de una hora de reperfusión, no ocurriendo lo mismo a nivel del íleon.

BIBLIOGRAFÍA

8. BIBLIOGRAFIA

1. Rouvière H, Delmas A. Anatomía humana. Descriptiva, topográfica y funcional. Tomo II. 11th ed. Barcelona: Masson; 2005. p. 181-407.
2. Van De Graaff KM. Human anatomy. 6 th ed. New York: McGraw-Hill Science; 2001. p. 652-60.
3. Tank PW, Gest TR. Atlas of anatomy. 1st ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2009. p. 225-253.
4. Bergan JJ. Síndromes isquémicos viscerales: obstrucción de arteria mesentérica superior, tronco celiaco y arteria mesentérica inferior. En: Sabiston DC, ed. Tratado de patología quirúrgica, 14^a ed. México: Interamericana-McGraw-Hill, 1995; p. 1839-1845.
5. Pons F. Enfermedades vasculares del intestino. En: Farreras P, Rozman C, eds. Medicina Interna, 13^a ed. Madrid: Mosby-Doyma, 1995; p. 200-207.
6. Kornblith PL, Booley SJ, Whitehouse BS. Anatomía de la circulación esplácnica. *Clin Quir Nort* 1992; 1: p. 1-28.
7. Ross M, Pawlin W, Kaye G. Histology. A text and atlas. 5 th ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2005. p. 491-503.
8. Mills SE. Histology for pathologists. 3 rd ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2007. p. 604-27.

9. Young B, Lowe S, Stevens A, Heath JW. Wheather's functional histology. A text and colour atlas. 5 th ed. Philadelphia: Elsevier; 2007. p. 263-287.
10. Fawcett DW. Los intestinos. En: Boom, Fawcett, eds. Tratado de Histología, 12ª ed. Madrid: Interamericana McGraw-Hill, 1995; 685-686.
11. Geneser F. Aparato digestivo. En: Geneser ed. Histología, 2ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1993; 415-422.
12. Udassin R, Vromen A, Haskel Y. The time sequence of injury and recovery following transient reversible intestinal ischemia. *J Surg Res* 1994; 56: 221-225.
13. Trier J, Krone C. The small intestine. Anatomy, embriology and congenital abnormalities. En: Sleisenger, Fordtran eds. Gastrointestinal disease. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1978; 986.
14. Hebel R, Stromberg MW. Anatomy and Embriology of the Laboratory Rat. Ed BioMed Verlag, 1986. p. 51.
15. 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.
16. Hofstetter J, Suckow MA, Hickman DL. Morphophysiology. En: Suckow MA, Weisbroth SH, Franklin CL, editores. The laboratory rat. 2 nd ed. London: Elsevier; 2006. p 103-4.

17. Clarke RM. Mucosal architecture and epithelial cell production rate in the small intestine of the albino rat. *J Anat* 1970;107:519-29.
18. Brandt LJ, Boley SJ. Intestinal ischemia. En: Feldman M, Friedman LS, Sleisenger MH (eds). *Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver disease*. Philadelphia: WB Saunders, 2002; 2321 - 2340.
19. Bradbury AW, Brittenden J, McBride K, Ruckley CV. Mesenteric ischemia: a multidisciplinary approach. *Br J Surg*, noviembre 1995; 82 (11) : 1446 -1459.
20. Brandt LJ, Boley SJ. AGA technical review on intestinal ischemia. American Gastrointestinal association. *Gastroenterology*, mayo 2000; 118 (5): 954 – 968
21. Jiménez Miramón J, Fernández Heredero A. Isquemia meséntérica aguda y crónica. En: Parrilla Paricio P, Landa García J.I. Madrid: Panamericana, 2010; 1063 – 1075.
22. Moneta GL. Diagnosis of intestinal ischemia. En: Rutherford RB (ed.). *Vascular Surgery*, 6ª ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005; 1501 -1512.
23. Kaleya RN, Sammartano RJ, Boley SJ. Aggresive approach to acute mesenteric ischemia. *Surg Clin North Am*, febrero 1992; 72 (1): 157 – 182.

24. Park WM, Gloviczki P, Cherry KJ Jr, Hallet JW Jr, Bower TC, Panneton JM, Schleck C, Ilstrup D, Harmsen S, Noel AA. Contemporary management of acute mesenteric ischemia: factors associated with survival. *J Vasc surg*, mayo 2002; 35 (3): 445 – 452.
25. Kaszaki J, Boros M, Szabo A, Nagy S. Role of histamine en the intestinal flow response following mesenteric ischemia. *Shock* 1994; 2: 413-420
26. Kong SE, Blennerhassett LR, Heel KA, McCauley RD, Hall JC. Ischaemia-reperfusion injury to the intestine. *Aust NZ J Surg* 1998;68:554-61.
27. Himmebusch 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.
28. Horton JW, Walker PB. Oxygen radicals, lipid peroxidation, and permeability changes after intestinal ischemia and reperfusion. *J Appl Physiol* 1993; 74: 1515-1520.
29. Langer JC, Sohal SS. Increased mucosal permeability after intestinal ischemia-reperfusion injury is mediated by local tissue factors. *J Pediatr Surg* 1992; 27: 329-332.
30. Kuenzler KA, Pearson PY, Schwartz MZ. Interleukin-11 enhances intestinal absorptive function after ischemia-reperfusion injury. *J Pediatr Surg* 2002;37:457-9.
31. Scolapio JS, Fleming CR. Short bowel syndrome. *Gastroenterol Clin North am* 1998;27:467-79.

32. Aksoyek S, Cinel I, Avian D, Cinel L, Ozturk C, Gurbuz P, et al. Intestinal ischemic preconditioning protects the intestine and reduces bacterial translocation. *Shock* 2002;18:476-80.
33. Berg RD. Bacterial translocation from the gastrointestinal tract. *Adv Exp Med Biol* 1999;473:11-30.
34. Schmeling DJ, Caty MG, Oldham KT, Guice KS, Hinshaw DB. Evidence for neutrophil-related acute lung injury after intestinal ischemia-reperfusion. *Surgery* 1989; 106: 195-202.
35. Turnage RH, Kadesky KM, Myers SI, Guice KS, Oldham KT. Hepatic hypoperfusion after intestinal reperfusion. *Surgery* 1996; 119: 151-160.
36. Rothenbach P, Turnage RH, Iglesias J, Riva A, Bartula L, Myers SI. Downstream effects of splanchnic ischemia-reperfusion injury on renal function and eicosanoid release. *J Appl Physiol* 1997;82:530-6.
37. Marshall JV. The gut as a potential trigger of exercise-induced inflammatory responses. *Can J Physiol Pharmacol* 1998;76:479-84.
38. 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.
39. Mainous MR, Ertel W, Chaudry IH, Deitch EA. The gut: a cytokine-generating organ in systemic inflammation? *Shock* 1995;4:193-9.

40. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology* 2001;94:1133-8.
41. Granger DN, Korthuis RJ. Physiologic mechanism of postischemic tissue injury. *Annu Rev Physiol* 1995;57:311-32.
42. 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.
43. Bagge U, Amundson B, Lauritzen C. White blood cell deformability and plugging of skeletal muscle capillaries in hemorrhagic shock. *Acta Physiol Scand* 1908;108:159-63.
44. 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.
45. Martin GR, Wallace JL. Gastrointestinal inflammation: a central component of mucosal defense and repair. *Exp Biol Med* 2006;231:130-7.
46. 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.
47. 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.

48. 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.
49. 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.
50. 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.
51. Harrison R. Structure and function of xanthine oxidoreductase: Where are we now? *Free Radic Biol Med* 2002;33:774-97.
52. Granger DN, Hollwarth ME, Parks DA. Ischemia-reperfusion injury: Role of oxygen-derived free radicals. *Acta Physiol Scand* 1986;548:47s-63s.
53. Zimmermann BJ, Granger DN. Reperfusion injury. *Surg Clin North Am*, 1992;72:65-83.
54. 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.
55. Barnes PJ. Nuclear factor-kappa B. *Int J Biochem Cell Biol* 1997;29:867-70.

56. 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.
57. 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.
58. 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.
59. 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;73:1511-3.
60. 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.
61. 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.
62. 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.

63. 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.
64. 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.
65. Katori M, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW. Heme oxygenase-1 system in organ transplantation. *Transplantation* 2002;74:905-12.
66. 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.
67. 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.
68. Chiu CJ, Scott HJ, Gurd FN. Volume deficit toxic absorption: a study of canine shock after mesenteric arterial occlusion. *Ann Surg* 1972;175(4): 479-488
69. Mabonor M, Tyagi RP. Experimental intestinal ischemic shock in dogs. *Am. J. Physiol.* 1973; 4:887-91
70. Brown RA, Chiu CJ, Scott Ni, Gurd FN. Ultrastructural changes in the canine ileal mucosal cell after mesenteric arterial occlusion. *Arch Sur.* 1970; 101: 290-297

71. Juel IS, Solligard E, Tvedt KE, Skogvoll E, Jynge P, et al. Post-ischaemic restituted intestinal mucosa is more resistant to further ischaemia than normal mucosa in the pig. *Scand J Clin Lab Invest* 2008; 68 (2): 106-16.
72. Canidis DT. Treatment of acute ischemia often intestine by peritoneal lavage in the rabbit. *Surg Gynecol Obstet.* 1973; 35: 199-202
73. Risueño AJC, Gómez AA, Villar LE, Garcia CE, García SJ, corral de la Calle J. Evolución de los niveles de la actividad enzimática B-N-acetilhexosaminidásica en el intestino isquémico. Estudio experimental. *Cirugía Española* 1991. 49(1): 26-28
74. Guijarro F. Alteraciones morfológico-funcionales en la isquemia aguda de la arteria mesentérica superior. Efecto de la fructosa 1-6 difosfato: estudio experimental en conejos. 1994. Tesis Doctoral. Departamento de Cirugía de la UCM. 66-138
75. Ahren C, Haglund U. Mucosal lesions in the small intestine of the cat during low flow. *Acta Physiol* 1973; 88: 541-550
76. Granger DN, Rutili G, McCord JM. Superoxide radicals in feline intestinal ischemia, *Gastroenterology* 1981; 81(1): 22-9
77. Ortiz Lacorzana J, García-Alonso 1, Apecechea A, Iturburu 1. The immune system and oxygen derived free radicals in small bowel reperfusion injury in the rat. *Research in Surgery* 1990; 2(3): 106-111

78. Riera JM, Alonso AF, Rodriguez BM. Efectos del alopurinol sobre la isquemia mesentérica experimental en la rata. *Rev. Esp. Enf. Digest* 1991; 79(1): 15-20
79. Bilbao J, García-Alonso 1, Portugal P, Barceló P, Apechea A, Méndez J. Eficacia de tratamientos antioxidantes (ácido fólico y alfatocoferol) en las lesiones intestinales inducidas por reperfusión. *Cir Esp* 1992; 51(4): 262-265
80. Carnés J. Estudio de la curva de supervivencia durante un proceso de isquemia mesentérica aguda. Alteraciones morfológico-funcionales y efecto del tratamiento con Superóxido dismutasa: estudio experimental en *Rattus norvegicus* 1999. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Biológicas. UCM: 7 1-77
81. Shapiro PB, Bronstein B, Frank ED, Fine J. Host resistance to hemorrhagic shock. XI. Role of deficient flow through intestine in development of irreversibility. *Biology of medicine* 1958; 97: 372-376
82. Hale Sayan, Haktan Ozacmak V, Samsi altaner, Gulhan Aktas R and Oktay Arslan S. Protective effects of L- Arginine on rat terminal ileum subjected to ischemia/ Reperfusion. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2008 Jan; 46 (1): 29 – 35.
83. Haglund U, Arvidsson 5, Schoenberg MH. Oxyradicals and acute gastrointestinal mucosal damage. Novelli, Orsini, editores. *Oxygen free radicals in shock.* Basel, Karger, 1986: 197-204.

84. Bailey RW, Bulkley GB, Hamilton SR, Morris JB, Haglund UH. Protection of the small intestine from nonocclusive mesenteric ischemic injury due to cardiogenic shock. *Am J Surg* 1987; 153: 108-116.
85. Myers SI, Hernández R. Oxygen free radical regulation of rat splanchnic blood flow. *Surgery* 1992; 112: 347-54.
86. Otamiri T, Sjödaahl R, Tagesson C. An experimental model for studying reversible intestinal ischemia. *Act Chir Scand* 1987; 153: 5 1-6.
87. 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.
88. Parks DA, Bulkley GB, Granger DN, Hamilton SR, McCord JM. Ischemic injury in the cat small intestine: role of the superoxide radicals. *Gastroenterology* 1982; 82: 9-15.
89. Bragg U, Thompson JS, West WW. Intestinal diamine oxidase levels reflect ischemic injury. *J Surg Res* 1991; 50: 228-33.
90. Sukhotnik I; Coran AG; Greenblatt R; Brod V; Mogilner J; Shiloni E; Shaoul R; Bitterman H. Effect of 100% oxygen on E-selectin expression, recruitment of neutrophils and enterocyte apoptosis following intestinal ischemia-reperfusion in a rat. *Pediatr Surg Int* 2008; 24(1): 29-35

91. Tunc T; Oter S; Güven A; Topal T; Kul M; Korkmaz A; Ongürü O; Sarici U. Protective effect of sulfhydryl-containing antioxidants against ischemia/reperfusion injury of prepubertal rat intestine. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24(4): 681-687
92. Zhang W; Zhu W; Zhang J; Li N; Li J. Protective effects of glucagon-like peptide 2 on intestinal ischemia-reperfusion rats. *Microsurgery* 2008; 28(4): 285-290
93. San Norberto García, E. Estudio de las repercusiones sobre el intestino delgado de la prostaglandina E1 en la isquemia-reperusión intestinal. 2009. Departamento de Cirugía de la Universidad de Valladolid.
94. 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;101:47883.
95. Park PO, Haglund U, Bulkeley GB, Fält K. The sequence of development of intestinal tissue injury after strangulation ishcemia and reperfusion. *Surgery* 1990;107:574-80.
96. Bhaskar L, Mathan MM, Balasubramanian KA Oxygen free radical-induced damage during colonic ischemic/rperfusion in rats. *Mol cell Biochem* 1995;151:9-14.
97. Wagner R, Gabbert H, Höhn P. Ischemia and post-ischemic regeneration of the small intestinal mucosa. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* 1979;31:259-76.

98. 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.
99. Cameron GR, Khanna SD. Regeneration of the intestinal villi after extensive mucosal infarction. *J Pathol Bacteriol* 1959;77:505-10.
100. Robinson W, Mirkovitch V, Winistörfer B, Saegesser F. Response of the intestinal mucosa to ischaemia. *Gut* 1981;22:512-27.
101. Payne D, Kubes P. Nitric oxide donors reduce the rise in reperfusion-induced intestinal mucosal permeability. *Am J Physiol* 1993;265:189-95.
102. Richard V, Kaeffer N, Tron C, Thuillez C: Ischemic preconditioning protects against coronary endothelial dysfunction induced by ischemia and reperfusion. *Circulation* 89(3):1254–1261, 1994
103. Hotter G, Closa D, Prados M, Fernández-Cruz L, Prats N, Gelpi E, Rosello-Catafau J. Intestinal preconditioning is mediated by a transient increase in nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;222:27-32.
104. 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.

105. 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
106. Ntinas A, Vrochides D, Iliadis S, Papageorgiou G, Alvanou-Achparaki A, Papadimitriou D, Spiridis C, Gerasimidis T. Oxygenated perfluorocarbons protect the intestine from the ischemia/reperfusion injury in rabbits. *Vasc Endovascular Surg*. 2011; 45(5):426-32
107. 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.
108. Souza DG, Cara DC, Cassali GD, Coutinho SF, Silveira MR, Andrade SP, et al. Effect 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.
109. 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.
110. 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.

111. 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.
112. 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.
113. 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.
114. 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.
115. Deveci E. Role of allopurinol, verapamil, dexamethasone and trifluoperazine as prophylactic agents in intestinal ischemia-reperfusion. *Anal Quant Cytol Histol* 2008;30:99-104.
116. Margaritis EV, Yanni AE, Agrogiannis G, Liarakos N, Pantopoulou A, Vlachos I, Papachristodoulou A, et al. Effects of oral administration of (L)-arginine, (L)-NAME and allopurinol on intestinal ischemia/reperfusion injury in rats. *Life Sci.* 2011; 88 (23-24):1070-6

117. 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.
118. 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.
119. Chen J, Crispín JC, Dalle Lucca J, Tsokos GC. A novel inhibitor of the alternative pathway of complement attenuates intestinal ischemia/reperfusion-induced injury. *J Surg Res*. 2011; 167(2): e131-6
120. Fukatsu K, Lundberg AH, Hann 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.
121. 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.
122. 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.
123. 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.

124. 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.
125. 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.
126. Kelly D, Wishmeyer PE. Role of L-glutamine in critical illness: new insights. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2003;6:217-22.
127. 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.
128. 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.
129. Mondello S, Galuppo M, Mazzon E, Domenico I, Mondello P, Carmela A, Cuzzocrea S. Glutamine treatment attenuates the development of ischaemia/reperfusion injury of the gut. *Eur J Pharmacol*. 2010; 643(2-3):304-15
130. Ijima S, Shou J, Naama H, Calvano SE, Daly JM. Beneficial effect of enteral glycine in intestinal ischemia/reperfusion injury. *J Gastrointest Surg* 1997;1:53-60.

131. Kelly D, 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.
132. Petrat F, Drowatzky J, Boengler K, Finckh B, Schmitz KJ, Schulz R, de Groot H. Protection from glycine at low doses in ischemia-reperfusion injury of the rat small intestine. *Eur Surg Res*. 2011;46(4):180-7.
133. Burges, R; Moisey, D. Unique pharmacologic properties of amlodipine. *Am J Cardiol* 1994; 73(3): 2A-9A
134. Mason RP. Mechanisms of plaque stabilization for the dihydropyridine calcium channel blocker amlodipine: review of the evidence. *Atherosclerosis* 2002;165:191–9.
135. Lucchesi BR, Hoff PT, Tamura Y. Cardioprotective effects of amlodipine in animal models of ischemia and reperfusion. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991;17:34–9.
136. Gross GJ, Farber NE, Pieper GM. Effects of amlodipine on myocardial ischemia-reperfusion injury in dogs. *Am J Cardiol* 1989; 64:941-1001.
137. Lucchesi BR, Tamura Y. Cardioprotective effects of amlodipine in the ischemic-reperfused heart. *Am Heart J* 1989;118:1121-1122.
138. Piratvisuth T, Dunne JB, Williams R, Tredger JM. Amlodipine improves hepatic hemodynamic and metabolic function in the isolated perfused rat liver after sequential cold and warm ischemia. *Transplantation* 1995;60: 23–8.

139. Yamagata K, Ichinose S, Tagami M. Amlodipine and carvedilol prevent cytotoxicity in cortical neurons isolated from stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Hypertens Res* 2004;27:271–82.
140. Halici Z; Karaca M; Keles ON; Borekci B; Odabasoglu F; Suleyman H; Cadirci E; Bayir Y; Unal B. Protective effects of amlodipine on ischemia-reperfusion injury of rat ovary: biochemical and histopathologic evaluation. *Fertil Steril* 2008; 90(6): 2408-2415
141. Burges RA. The pharmacological profile of amlodipine in relation to ischaemic heart disease. *Postgrad Med J.* 1991; 67 Suppl 3:S9-15.
142. Nayler, W. G. amlodipine pretreatment and the ischaemic heart. *Am j Cardiol* 1986, 64: 651-701
143. Ficha técnica Norvas®, Amlodipino. Agencia española de medicamentos y productos sanitarios. Ministerio de sanidad y consumo. Disponible en:
<https://sinaem4.agemed.es/consaem/especialidad.do?metodo=verFichaWordPdf&codigo=59160&formato=pdf&formulario=FICHAS>
144. WS Weintraub. The vascular effects of cilostazol. *Can J Cardiol* 2006;22(Suppl B):56B-60B.
145. Hong K W; Lee J H; Kima K Y; Park S Y; Lee W S. Cilostazol: therapeutic potential against focal cerebral ischemic damage. *Curr Pharm Des* 2006; 12(5): 565-573.
146. Nakamura T, Houchi H, Minami A, et al. Endothelium-dependent relaxation by cilostazol, a phosphodiesterase III inhibitor, on rat thoracic aorta. *Life Sci* 2001;69:1709-15.

147. Ishizaka N, Taguchi J, Kimura Y, et al. Effects of a single local administration of cilostazol on neointimal formation in balloon-injured rat carotid artery. *Atherosclerosis* 1999;142:41-6.
148. Ahn CW, Lee HC, Park SW, et al. Decrease in carotid intima media thickness after 1 year of cilostazol treatment in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 2001;52:45-53.
149. Kimura Y, Tani T, Kanbe T, Watanabe K. Effect of cilostazol on platelet aggregation and experimental thrombosis. *Arzneimittelforschung* 1985;35:1144-9.
150. Saitoh S, Saito T, Otake A, et al. Cilostazol, a novel cyclic AMP phosphodiesterase inhibitor, prevents reocclusion after coronary arterial thrombolysis with recombinant tissue-type plasminogen activator. *Arterioscler Thromb* 1993;13:563-70.
151. Igawa T, Tani T, Chijiwa T, et al. Potentiation of anti-platelet aggregating activity of cilostazol with vascular endothelial cells. *Thromb Res* 1990;57:617-23.
152. Wilhite DB, Comerota AJ, Schmieder FA, Throm RC, Gaughan JP, Rao AK. Managing PAD with multiple platelet inhibitors: The effect of combination therapy on bleeding time. *J Vasc Surg* 2003;38:710-3.
153. Tani T, Uehara K, Sudo T, Marukawa K, Yasuda Y, Kimura Y. Cilostazol, a selective type III phosphodiesterase inhibitor, decreases triglyceride and increases HDL cholesterol levels by increasing lipoprotein lipase activity in rats. *Atherosclerosis* 2000;152:299-305.

154. Beebe HG, Dawson DL, Cutler BS, et al. A new pharmacological treatment for intermittent claudication: Results of a randomized, multicenter trial. *Arch Intern Med* 1999;159:2041-50.
155. Dawson DL, Cutler BS, Hiatt WR, et al. A comparison of cilostazol and pentoxifylline for treating intermittent claudication. *Am J Med* 2000;109:523-30.
156. Mohler ER III, Beebe HG, Salles-Cuhna S, et al. Effects of cilostazol on resting ankle pressures and exercise-induced ischemia in patients with intermittent claudication. *Vasc Med* 2001;6:151-6.
157. Douglas JS, Weintraub WS, Holmes D. Rationale and design of the randomized, multicenter, Cilostazol for RESTenosis (CREST) trial. *Clin Cardiol* 2003;26:451-4.
158. Fukasawa M, Nishida H, Sato T, Miyazaki M, Nakaya H. 6-[4-(1-Cyclohexyl-1H-tetrazol-5-yl)butoxy]-3,4-dihydro-2-(1H)quinolinone (cilostazol), a phosphodiesterase type 3 inhibitor, reduces infarct size via activation of mitochondrial Ca²⁺-activated K⁺ channels in rabbit hearts. *J Pharmacol Exp Ther*. 2008 Jul;326(1):100-4
159. Yuzawa I, Yamada M, Fujii K. An oral administration of cilostazol before focal ischemia reduces the infarct volume with delayed cerebral blood flow increase in rats. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2008 Sep;17(5):281-6.

160. Iba T, Kidokoro A, Fukunaga M, Takuhiro K, Ouchi M, Ito Y. Comparison of the protective effects of type III phosphodiesterase (PDE3) inhibitor (cilostazol) and acetylsalicylic acid on intestinal microcirculation after ischemia reperfusion injury in mice. *Shock*. 2006 Nov;26(5):522-6.
161. Lee JH, Lee YK, Ishikawa M, Koga K, Fukunaga M, Miyakoda G, et al. Cilostazol reduces brain lesion induced by focal cerebral ischemia in rats--an MRI study. *Brain Res* 2003; 994: 91-8.
162. Choi JM, Shin HK, Kim KY, Lee JH, Hong KW. Neuroprotective effect of cilostazol against focal cerebral ischemia via antiapoptotic action in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 300: 787-93.
163. Ficha técnica Pletal®, Cilostazol. Agencia española de medicamentos y productos sanitarios. Ministerio de sanidad y consumo. Disponible en:
<https://sinaem4.agemed.es/consaem/especialidad.do?metodo=verFichaWordPdf&codigo=69562&formato=pdf&formulario=FICHAS>
164. Caballero ME, Berlanga J, Ramirez D, Lopez-Saura P, González R, Floyd DN, et al. Epidermal growth factor reduces multiorgan failure induced by thioacetamide. *Gut* 2001;48:34-40.
165. Arakawa K, Takeyoshi I, Akao Y, Totsuka O, Matsumoto K, Morishita Y. Bradykinin B2 receptor antagonist FR173657 ameliorates small bowel ischemia-reperfusion injury in dogs. *Dig Dis Sci* 2005 Jan; 50 (1): 27-36

166. Takeyoshi I, Zhang S, Nakamura K, Ikoma A, Zhu Y, Starzl TE, et al. Effect of ischemia on the canine large bowel: A comparison with the small intestine. *J Surg Res* 1996;62:41-8.
167. Suto Y, Oshima K, Arakawa K, Sato H, Yamazaki H, Matsumoto K, Takeyoshi I. The effect of Nicorandil on small intestinal ischemia-reperfusion injury in a canine model. *Dig Dis Sci.* 2011; 56(8): 2276-82
168. Vlachakis IK, Pitoulis GA, Kontopoulou KE, Kotakidou RE, Kosmidou EK, Kallaitzopoulou ME, Papadimitriou DK. Semapimod a new pretreatment modality of acute intestinal ischemia-reperfusion syndrome: experimental study in rabbits. *Int Angiol,* 2011; 30 (1): 35 -42.
169. Madesh M, Bhaskar L, Balasubramanian KA. Enterocyte viability and mitochondrial function after graded intestinal ischemia and reperfusion in rats. *Mol Cell Biochem* 1997; 167: 81-87.
170. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Mitchell R. Robbins basic pathology. 8 th ed. Philadelphia: Elsevier; 2007. p. 600-3.
171. Zingarelli B, Yanq Z, Hake PW, Denenberg A, Wong HR. Absence of endogenous interleukin 10 enhances early stress response during post-ischaemic injury in mice intestine. *Gut* 2001;48:610-22.
172. Barut I, Tarhan OR, Kapucuoglu N, Sutcu R, Akdeniz Y. Effect of bencyclane fumarate on intestinal ischaemia reperfusion injury. *ANZ J Surg.* 2008;78(6):476-81.

173. Ozturk H, Ozturk H, Duran H, Uzunlar AK. Mibefradil, a T-type Ca²⁺ channel blocker, protects against mesenteric ischemia-reperfusion-induced oxidative injury and histologic alterations in intestinal mucosa in rats. *Dig Dis Sci.* 2006;51(8):1454-60.
174. Cámara-Lemarroy CR, Guzmán-de la Garza FJ, Alarcón-Galván G, Cordero-Pérez P, Muñoz-Espinosa LE, Fernández-Garza NE. Effects of thalidomide and pentoxifylline over local and remote organ injury after intestinal ischemia/reperfusion. *Transplant Proc.* 2010;42(5):1624-6.
175. Berkels R, Taubert D, Bartels H, Breitenbach T, Klaus W, Roesen R. Amlodipine increases endothelial nitric oxide by dual mechanisms. *Pharmacology.* 2004;70(1):39-45.
176. Oktar BK, Gülpinar MA, Bozkurt A, Ghandour S, Cetinel S, Moini H, et al. Endothelin receptor blockers reduce I/R-induced intestinal mucosal injury of blood flow. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002;282:G647-55.
177. Collange O, Tamion F, Chanel S, Hue G, Richard V, Thuilliez C, Dureuil B, Plissonnier D. D-lactate is not a reliable marker of gut ischemia-reperfusion in a rat model of supraceliac aortic clamping. *Crit Care Med.* 2006;34(5):1415-9.
178. Rijke, RP, van der Meer- Fieggen W, Galjaard, H. Effect of villus length on cell proliferation and migration in small intestinal epithelium. *Cell Tissue Kinet.* 1974;7(6):577-86.
179. Park PO, Haglund U. Regeneration of small bowell mucosa after intestinal ischemia. *Crit Care med* 1992;20:135-9.