

Cátedra de Patología y Clínica Quirúrgicas (Laboratorio de Cirugía Experimental).
Facultad de Medicina y Odontología. Universidad del País Vasco.

Influencia del peso corporal y del período de isquemia mesentérica aguda en la mortalidad de ratas sometidas a revascularización intestinal

Ortiz Lacorzana, J.*; García-Alonso Montoya, I.**; Portugal Porras, V.***, y Méndez Martín, J.****

SUMMARY

We have studied the influence of corporal weight and acute mesenteric ischemia (AMI) duration on the mortality and average survival of rats submitted to intestinal revascularization. The results demonstrated that mortality is under 50% when the AMI is equal or less than 2 hours. There are also important differences in mortality, for the same AMI duration, depending on the corporal weight and age of the animals. The differences are statistically significant up to 210 g. In conclusion, in experimental studies on intestinal ischemia-revascularization, it is necessary to correct for factors as ischemia duration and weight, which are variables that can alter the results.

KEY WORDS: Mesenteric ischemia, intestinal revascularization.

Ortiz Lacorzana, J.; García-Alonso Montoya, I.; Portugal Porras, V., y Méndez Martín, J. Influence of body weight and the time of acute mesenteric ischemia in the mortality of rats undergoing intestinal revascularization. Rev Esp Enf Digest, 1990, 77, 263-267.

RESUMEN

Se estudia la participación del peso corporal y del período de isquemia mesentérica aguda (IMA), como variables experimentales en la mortalidad y duración media de la supervivencia de ratas sometidas a revascularización intestinal. Los resultados indican que la mortalidad se hace inferior al 50% de los animales cuando la IMA tiene una duración igual o inferior a dos horas. Asimismo, se constatan notables variaciones en los porcentajes de mortalidad, dentro del mismo período isquémico, en dependencia con el peso corporal/edad del animal. Al respecto se obtienen valores estadísticamente

significativos hasta pesos no superiores a los 210 g. En conclusión, al realizar estudios experimentales sobre la isquemia-revascularización del intestino delgado deben considerarse los factores peso-período de isquemia como variables que pueden modificar los resultados.

PALABRAS CLAVE: Isquemia mesentérica, revascularización intestinal.

INTRODUCCION

El estudio de la isquemia mesentérica aguda (IMA) en animales se remonta a los trabajos que VIRCHOW y LITTEN, en 1875 (1), realizaron en perros con el fin de poder observar las modificaciones producidas en el intestino tras la interrupción brusca del flujo de la arteria mesentérica superior. Desde entonces se han utilizado diversos modelos experimentales en animales para estudiar los factores que condicionan la evolución de las lesiones producidas por la isquemia mesentérica aguda (2, 3). Tras observar en la clínica que los primeros intentos de recanalización de los vasos mesentéricos obstruidos se acompañaban de un empeoramiento del cuadro general (lo que ha venido a denominarse «síndrome de revascularización intestinal» —SRI—), estos modelos animales se han vuelto a utilizar para el estudio de la fisiopatología de este proceso (4-6). Otro campo de aplicación de las técnicas de IMA y SRI experimentales se sitúa en el estudio de la fisiopatología del shock, cuadro que guarda estrecha relación fisiopatológica con el SRI (7).

La mayoría de los trabajos publicados se basan en el ensayo de «procedimientos» o «sustancias» que atenúen el SRI, como medio indirecto para mejorar el conocimiento de su fisiopatología o en busca de una aplicación directamente terapéutica (2, 7-11).

Los animales más comúnmente utilizados han sido el perro y el gato, por ser su tamaño adecuado para la manipulación de los vasos mesentéricos. Sin embargo, su coste y los problemas que actualmente se presentan con las leyes sobre protección de animales hacen más aconsejable trasladar este ti-

* Profesor Colaborador.
** Profesor Titular Interino.
*** Becario.
**** Catedrático.

po de estudios a los roedores (al menos en sus etapas iniciales). Con el uso de clips vasculares, la técnica quirúrgica en la rata resulta cómoda y fácil de estandarizar.

Junto al modelo experimental, resulta muy importante disponer de uno o varios parámetros que permitan valorar las modificaciones introducidas en aquél por los diversos «tratamientos» ensayados. En este sentido, nuestro trabajo se ha diseñado para obtener unos valores «estándar» de mortalidad tras períodos variables de IMA en la rata.

MATERIAL Y METODOS

Se han utilizado 70 ratas hembras (Sprague-Dawley), suministradas por el Estabulario de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad del País Vasco. La alimentación utilizada ha sido A.04 de Panlab, S. L. (Barcelona). Atendiendo a la duración de la isquemia se han considerado cinco grupos de animales (tabla I).

A fin de evitar las variaciones debidas a los ritmos biológicos, las experiencias se han realizado siempre entre las nueve y las trece horas. Previa anestesia con nembutal (pentobarbital sódico, Serva) al 1,5% (35 mg/kg), se practica laparotomía media y, tras abrir el retroperitoneo, se disea y clampa la arteria mesentérica superior. La anulación del riesgo intestinal se comprueba apreciando el cese del latido en los vasos intestinales. La pared abdominal se cierra con sutura continua de seda. Transcurrido el período de isquemia, y tras comprobar la eficacia de la misma y las alteraciones macroscópicas existentes, se retira el clip y se investiga la recuperación de los latidos en el territorio mesentérico. La herida laparotómica se cierra con puntos sueltos de seda.

En cada una de las series experimentales se ha valorado la mortalidad durante las primeras cuarenta y ocho horas y la supervivencia media de los animales fallecidos dentro de dicho plazo. En todos los casos se ha practicado estudio necróscopico de los mismos.

La valoración y comparación de los resultados obtenidos se ha llevado a cabo mediante las siguientes pruebas estadísticas: para la comparación de caracteres cualitativos, se uti-

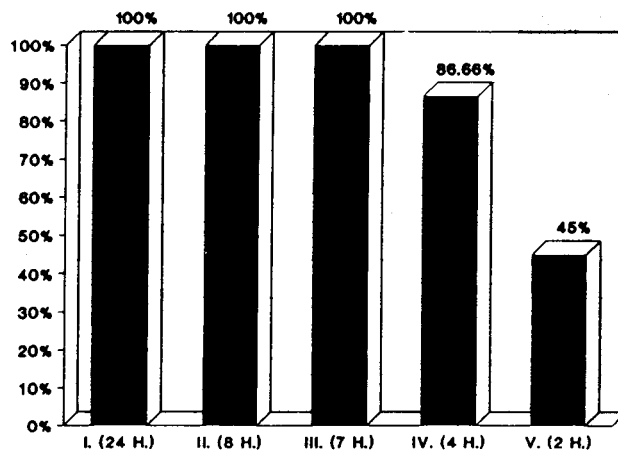


FIG. 1.—Mortalidad a las cuarenta y ocho horas en cada grupo experimental.

liza el test de χ^2 -cuadrado o el test de Fisher. Las variables cuantitativas se expresan según su media y desviación típica. Para la comparación de los pesos se utilizan los tests de U-Mann Whitney y Kurskal Wallis. Se dieron como significativos los valores de p inferiores a 0,05 (en prueba bilateral).

RESULTADOS

Los resultados obtenidos con los distintos tiempos de isquemia se ilustran de manera gráfica en la figura 1. Así, en el grupo I todos los animales fallecieron antes de la revascularización, a excepción de uno que sobrevivió dos horas. Por tanto, la mortalidad a las cuarenta y ocho horas fue del 100%.

En el grupo II la mortalidad a las cuarenta y ocho horas fue igualmente al 100% y la duración media de la supervivencia en los cuatro animales que sobrevivieron a la isquemia (uno falleció antes de retirar el clip) fue de 1,95 h. (rango, 0,3-4 h.). El grupo III presentó una mortalidad idéntica a los grupos anteriores (100%). En cambio, la supervivencia media fue de 3,26 h. (rango, 0,3-6 h.).

	Núm. de animales	Horas isquemia	PESOS (g)				
			Media	DS	Rango	Mínimo	Máximo
I	5	24	274,4	15,29	36	234	270
II	5	8	221,4	6,89	17	214	231
III	5	7	227,4	15,14	35	215	250
IV	15	4	224,0	19,63	67	181	248
V	20	2	238,5	14,19	50	211	261
TOTAL	50	—	232,2	17,29	89	181	270

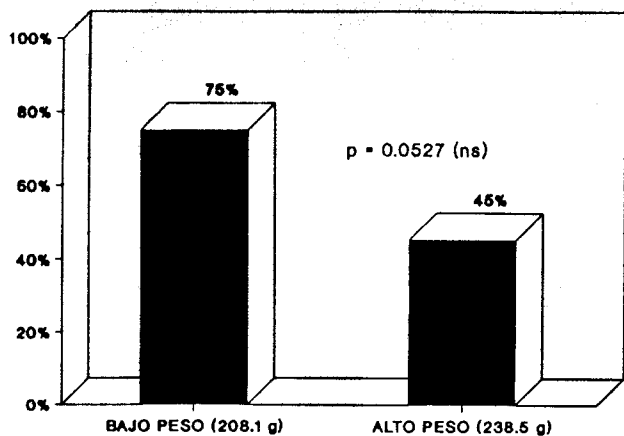


FIG. 2.—Mortalidad en los dos grupos de animales sometidos a dos horas de isquemia (alto y bajo peso).

En el grupo IV dos animales sobrevivieron a las cuarente y ocho horas, siendo la mortalidad del 86,66%. La duración media de la supervivencia de los fallecidos en este grupo de animales fue de 6,88 h. (rango, 0,5-15 h.). El grupo V presentó una mortalidad del 45% (9/20) con un tiempo de supervivencia medio de 11,33 h. (rango, entre 6 y 18 h.).

Mientras en las tres series de cinco animales del grupo IV los resultados de mortalidad fueron homogéneos, en las cuatro series del grupo V se observaron excesivas variaciones. Ya que la alimentación, aclimatación y técnica quirúrgica estaban correctamente estandarizadas, se investigaron posibles variaciones no controladas en el peso de los animales y su relación con la mortalidad producida por la isquemia. Si bien no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los distintos grupos (tabla I), al revisar el registro individual de los pesos se apreció una dispersión que pudiera ser excesiva en caso de influir el peso en los resultados. Además, la media en el grupo V tendía a significarse como superior a la de los grupos II a IV. Por este motivo se añadió un nuevo grupo de 20 animales con un peso medio

inferior al del grupo V (208,1 g vs 238,5 g; $U = 76; p = 0,0005$). La mortalidad en este sexto grupo fue del 75% (15/20). La duración media de la supervivencia fue de 12,26 h. (rango de 2 a 18)

Si bien la mortalidad fue mayor en el grupo de menor peso, esta diferencia no fue estadísticamente significativa, aunque sí hubo una tendencia muy alta para diferenciar ambos grupos ($p = 0,0527$) (fig. 2).

La duración media de la supervivencia en los animales fallecidos de ambos grupos no mostró diferencias estadísticamente significativas ($U = 60,5, ns$).

Con el fin de valorar la posible significación del peso en la mortalidad de nuestras series, ya insinuada con la realización del grupo VI, llevamos a cabo un estudio estadístico considerando en su conjunto los animales de los grupos V y VI ($n = 40$).

Para ello se dividieron los dos grupos considerando como criterio diferenciador el peso. Al utilizar los 200 g como valor límite, las diferencias en la mortalidad resultaron significativas ($p = 0,007$). Esta significación se mantuvo para los 205 g y los 210 g ($p = 0,007$) y $p = 0,02$, respectivamente). A partir de los 210 g no existieron diferencias estadísticamente significativas (tabla II).

Al finalizar el período isquémico y retirar el clip vascular se constató la existencia de una gran dilatación intestinal con líquido peritoneal y total ausencia de peristalsis. Las asas intestinales presentaron una coloración que varió desde rojocianótico en los animales sometidos a menor tiempo de isquemia, hasta francamente cianótica con aspecto necrótico y mayor cantidad de líquido libre intraperitoneal en los animales sometidos a clampajes más prolongados. A partir de las cuatro horas, las lesiones no aumentaron con la prolongación de la isquemia.

Un dato característico observado en todos los animales ha sido el aumento de tamaño de las placas de Peyer. Este fenómeno, que ha resultado evidente a partir de los primeros cuatro-cinco minutos de isquemia, se manifiesta por la aparición de unos nódulos blanquecinos de 3-4 mm, con límites

PL (peso límite) g	MORTALIDAD (%)		COMPARACION ESTADISTICA	
	>PL	<PL	p	Ji cuadrado
200	53,5	91,6	0,007*	7,16
205	53,5	91,6	0,007*	7,16
210	48,1	84,6	0,020*	4,86
215	56,0	73,3	0,270	1,20
220	52,1	70,5	0,390	1,38
225	54,5	66,6	0,430	0,60

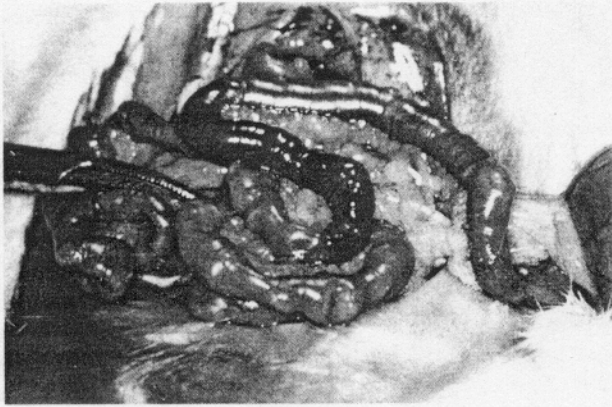


FIG. 3.—Intestino delgado tras dos horas de isquemia. Se aprecian las placas de Peyer haciendo protusión en la serosa.

nítidos y superficie granulosa, que hacen protusión a nivel de la serosa intestinal y se distribuyen a lo largo del borde antimesentérico del intestino delgado (fig. 3).

Una vez retirado el clamp vascular, en todos los casos se restableció el latido mesentérico, aunque en los animales sometidos a tiempos mayores de cuatro horas fue necesario el realizar un leve masaje del mesenterio.

DISCUSION

Tras los diversos estudios experimentales, se ha sugerido que la insuficiencia vascular del tracto gastrointestinal origina una serie de cambios hemodinámicos que por sí mismos llevan a un mayor deterioro de la circulación y de los tejidos (2, 12). Esta serie de hechos se acompaña de la liberación de productos tóxicos que no sólo actúan a nivel local, sino que pueden tener efecto en otras regiones de la economía como son el sistema cardiovascular y el renal. WILLIAMS y cols. (13) demostraron que tras dos horas de isquemia mesentérica en el perro se produce un descenso en el flujo cardíaco y en la presión sanguínea que en muchos casos conduce al shock irreversible.

Tras la revascularización, los fenómenos lesionales progresan y existe un verdadero barrido de las zonas superficiales afectadas, junto con una agudización de los fenómenos hemorrágicos (2, 7).

La mortalidad que se observa en los trabajos de isquemia-revascularización intestinal es muy elevada (50-90%). Como causas de esta elevada mortalidad se han propuesto las siguientes: desarrollo de una endotoxemia bacteriana y consiguiente depresión del sistema retículo endotelial (14), absorción de sustancias intestinales tóxicas una vez los mecanismos de absorción de la mucosa intestinal se han alterado (15), pérdida masiva de líquidos (4), liberación de sustancias vasoactivas (16), rotura lisosómica y liberación de hidrolasas (17), radicales libres del oxígeno (1, 18-19), y acidosis metabólica (20).

El aspecto macroscópico de las lesiones producidas por la isquemia-revascularización intestinal en nuestras series experimentales son similares a las descripciones referidas por

otros autores (1, 14, 21). Sin embargo, nos ha llamado la atención no encontrar en esos trabajos referencias al aumento de tamaño de las Placas de Peyer que hemos observado de manera constante en nuestros animales. Es posible que este fenómeno pueda tener alguna significación en la evolución de las lesiones del SRI.

Con respecto a la mortalidad registrada en nuestras series cabe decir que, si bien es específica de las ratas, su perfil es en todo similar al observado por otros autores (5, 19, 22). En este sentido, existe un tiempo máximo de isquemia tolerable (en torno a las cuatro-seis horas), a partir del cual el intestino se torna inviable y el animal sufre un shock irreversible que le causa la muerte no existiendo en este caso un verdadero síndrome de revascularización (21).

Un aspecto de interés práctico a la hora de comentar los resultados obtenidos es la influencia que el peso de los animales parece tener sobre la tolerancia de la IMA (y, por tanto, sobre la mortalidad registrada). A pesar de que el análisis estadístico no muestra una significación definitiva entre los resultados de los grupos V y VI los posteriores estudios realizados, reflejados en la tabla II, nos permite afirmar la existencia de dicha relación.

Ya que la alimentación y condiciones previas se ajustaron en todo momento a los patrones estándar, las diferencias en peso han de deberse a una diferencia en la edad de los animales; así, los 208,1 g del grupo VI se correspondían con una edad media de 8,5 semanas, mientras que los 238,5 g del grupo V indicarían once semanas. Si aceptamos que la diferencia de peso no es más que un reflejo de la diferente edad de los animales, esto podría justificar el fenómeno que nos ocupa. Más aún si tenemos en cuenta que las ocho-nueve semanas en la rata Sprague se considera una etapa intermedia entre la adolescencia y la edad adulta. Por otra parte, algunos autores han encontrado en otras especies una peor tolerancia a la IMA por parte de los animales más jóvenes (23).

Este resultado lo consideramos de gran interés, ya que a la hora de interpretar los resultados obtenidos en los diferentes trabajos publicados, no sólo influye el tipo de animal utilizado, la aclimatación, la hora de realización del experimento (la rata realiza su comida fundamentalmente por la noche y las condiciones intestinales no son iguales por la mañana que por la tarde) o el tipo de alimentación empleado, sino que ha de tenerse en cuenta también el peso/edad de los animales.

Esta mayor mortalidad en los animales más jóvenes puede deberse a una peor adaptación, respuesta o tolerancia al shock hipovolémico, al igual que sucede en los más jóvenes con respecto a los adultos en esas situaciones.

Un último aspecto del trabajo que necesita su comentario es el período de cuarenta y ocho horas al que se ciñe la valoración de la mortalidad. La elección se basó en la experiencia de otros autores que utilizaron este mismo lapso de tiempo como control para estudios de mortalidad en la IMA y SRI (5). A pesar de ello, los animales fueron vigilados en el laboratorio durante una semana antes de sacrificarlos, sin que en ningún caso se produjeran muertes más allá de las citadas cuarenta y ocho horas.

La utilidad de los estudios de mortalidad estriba en que es

el medio más elemental, si bien en algunos aspectos poco específico, para valorar el efecto beneficioso de una medida terapéutica. Disponer de una tabla con diversas tasas de mortalidad asociadas a un mismo proceso (con sólo modificar uno de los parámetros de la técnica) ofrece numerosas ventajas a la hora de diseñar un estudio determinado.

Además, añadiendo el cálculo de la duración media de la supervivencia, se consigue dotar a los estudios de mortalidad de una mayor «finura»: en el caso hipotético de que la mejora inducida por un tratamiento no sea suficiente para disminuir la mortalidad media en un grupo experimental, es posible, sin embargo, que se traduzca en un retraso en el fallecimiento de los animales.

BIBLIOGRAFIA

1. Litten M. Über die Folgen des Verschlusses des Arteria mesaraica superior. *Virchows Archiv für Pathologische Anatomie* 1875; 63: 289-312.
2. Chiu CJ, McArdle AM, Brown R y Scott HJ. Intestinal mucosal lesions in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal. *Arch Surg* 1970; 101: 478-483.
3. Carbonell-Canti A. Aspectos morfológicos experimentales tras diversos períodos de isquemia aguda intestinal. *I Rev Quir Esp* 1978; 5: 91-96.
4. Marston A. Enfermedad vascular mesentérica. En Maingot: *Operaciones Abdominales*. Tomo I. Octava Edición. Ed. Panamericana, Buenos Aires 1986; pp. 457-472.
5. Ben-Dahan J, Gross D, Abu-Dalu H, Klin B, Landau EH, Nyska y Krausz MM. Effect of prostaglandin and leukotriene antagonists in acute mesenteric artery occlusion. *Eur Surg Res* 1988; 20: 310-319.
6. Rosendo A, Latorre J, Gómez F y cols. Síndrome de revascularización intestinal. Estudio secuencial en perros. *Angiología* 1984; 36 (5): 207-218.
7. Manohar M y Tyagi RPS. Experimental intestinal ischemia shock in dogs. *Am J Physiol* 1975; 225: 887-892.
8. Nelson LE y Kremen AJ. Experimental occlusion of the superior mesenteric vessels special reference to the role of intravascular thrombosis and its prevention by heparin. *Surgery* 1965; 28: 819-826.
9. Norlen K, Rentzhog L y Wikstrom S. The effect of dopamine in segmental ischemia of the small intestine in the rat. *Acta Quir Scand* 1978; 144: 313-320.
10. Granger DN, McCord JM, Parks DA y Hollwarth ME. Xanthine oxidase inhibitors attenuate ischemic-induced vascular permeability changes in the rat intestine. *Gastroenterology* 1986; 90: 80-84.
11. Boorstein JM. Pharmacologic treatment of occlusive mesenteric ischemia in rats. *J Surg Res* 1988; 44 (5): 555-560.
12. Suso FJ, Gómez A, González JM, García J, Cuadrado F y Ramos A. Repercusión hepática de la isquemia intestinal aguda. Estudio experimental. *Rev Esp Enf Ap Digest* 1988; 74 (3): 219-224.
13. Williams LF, Goldberg AM, Polansky BJ y Byrne JJ. Myocardial effects of acute intestinal ischemia. *Surgery* 1969; 66: 138-141.
14. Milliken J, Nahor A y Fine J. A study of the factors in the development of peripheral vascular collapse following release of occluded superior mesenteric artery. *Brit J Surg* 1965; 52: 699-704.
15. Bounus G. Role of intestinal contents in the pathophysiology of acute intestinal ischemia. *Am J Surg* 1967; 114: 368-375.
16. Kobold EE y Thal AP. Quantitation and identification of vasoactive substances liberated during various types of experimental and clinical intestinal ischemia. *Surg Gynecol Obstet* 1963; 117: 315-325.
17. Glenn TM y Lefer AM. Role of lysosomes in the pathogenesis of splanchnic shock in rats. *Circ Res* 1970; 27: 783-787.
18. Parks DA, Granger DN, Bulkley GB y Shah AK. Serine protease inhibitor attenuates ischemic injury in the feline small intestine. *Gastroenterology* 1985; 89: 6-12.
19. García J, Martín Rullán C y Gómez Alonso A. Papel de los radicales libres en algunos procesos de isquemia-revascularización de particular interés para el cirujano. *Cir Esp* 1988; 66 (2): 209-251.
20. Robertson GS, Lyall AD y McRae JG. Acid-base disturbances in mesenteric occlusion. *Surg Gynecol Obstet* 1969; 128: 15-20.
21. Sánchez-Lozano J. El síndrome de revascularización intestinal. Estudio experimental. *Rev Quir Esp* 1980; 7 (3): 58-63.
22. Demetriou AA, Kagoma PK, Kaiser S, Sifter E, Niu XT y Levenson SM. Effect of dimethyl sulfoxide and glycerol on acute bowel ischemia in the rat. *Am J Surg* 1985; 149: 91-94.
23. Dunn SP, Gross KR, Dalsing M, Hon R y Grosfeld JL. Superoxide: A critical oxygen-free radical in ischemic bowel injury. *J Pediatr Surg* 1984; 19 (6): 740-744.

Recibido: 10-XI-89.
