

Original

Perfil del peso corporal en la isquemia mesentérica aguda. Estudio experimental en conejos Nueva Zelanda

J. F. Guijarro Escribano*, C. Gutiérrez Ortega**, P. Montenegro Álvarez de Tejada*** y J. Arias Díaz****

*Servicio de Cirugía Vascular. **Servicio de Salud Laboral. ***Servicio de Farmacia. Hospital Central de la Defensa Gómez Ulla. Madrid. ****Departamento de Cirugía. Hospital Clínico San Carlos. Madrid. España.

Resumen

Introducción y objetivos: Hay pocos trabajos de investigación que relacionen la isquemia mesentérica aguda y el peso corporal en la experimentación animal. Se pretende estudiar, si la pérdida de peso inicial, está relacionada con la magnitud de la agresión provocada por los clampajes de la arteria mesentérica superior durante 30 y 60 minutos, y si la isquemia reperusión puede dificultar la recuperación ponderal del peso en los animales supervivientes, al final de las 11 semanas del trabajo experimental con conejos Nueva Zelanda, mediante un modelo experimental válido.

Material y método: Se distribuyeron 80 animales (conejos) en cuatro series de 20: serie I (control), los animales fueron pesados durante 11 semanas; serie II (operación simulada), serie III (isquemia mesentérica 30 minutos) y serie IV (isquemia mesentérica 60 minutos). Provocamos la isquemia por pinzamiento de la arteria mesentérica superior. Los animales de las series II, III y IV fueron pesados 24 horas antes del procedimiento quirúrgico y semanalmente en el postoperatorio durante su supervivencia hasta completar 11 semanas. Para el análisis de los pesos, se aplicó un ANOVA enfrentando la variación del peso porcentual en función de la serie. Todos los animales fueron necropsiados para conocer la causa del fallecimiento y las lesiones histológicas de la mucosa intestinal

Resultados: La serie control tuvo un incremento lineal del peso hasta el final del período de observación. Las series II, III y IV sufrieron un descenso

BODY WEIGHT PROFILE IN ACUTE MESENTERIC ISCHEMIA. EXPERIMENTAL STUDY IN NEW-ZEALAND RABBITS

Abstract

Introduction and objectives: There are few investigation studies that relate acute mesenteric ischemia and body weight in animal experimentation. The aim is to studying whether initial weight loss is related to the magnitude of the aggression induced by clamps of the superior mesenteric artery for 30 and 60 minutes, and whether reperfusion ischemia may hinder weight recovery in surviving animals at the end of 11 weeks of experimental work with New Zealand rabbits through a valid experimental model.

Materials and method: 80 animals (rabbits) were distributed in four series of 20 each one: series I (control), animals were weighed for 11 weeks; series II (simulated surgery); series III (mesenteric ischemia for 30 minutes); series IV (mesenteric ischemia for 60 minutes). We induced ischemia by clamping the superior mesenteric artery. Animals from series II, III, and IV were weighed 24 hours before the surgical procedure and weekly after surgery along their survival, until completing 11 weeks. For weight analysis, an ANOVA test was used by confronting the percentage weight variation according to the series. All animals were necropsied to know the cause of death and histological lesions of the intestinal mucosa.

Results: Series I had a linear weight increase until the end of the observation period. Series II, III and IV had a significant initial decrease of the percentage weight during the first post-surgical week, with a recovery towards the end of the study, but significantly lower as compared to the control series. Significant differences have also been found in weight recovery at 11 weeks between series II and series III and IV, and between ischemic series.

Correspondencia: José F. Guijarro Escribano
Servicio de Cirugía Vascular
Hospital Central de la Defensa Gómez Ulla
Gta. del Ejército, s/n
28047 Madrid
E-mail: jfge41@wanadoo.es

Recibido: 13-XII-2004.
Aceptado: 10-II-2005.

inicial significativo del peso porcentual en la primera semana del postoperatorio, con una recuperación al final del estudio, pero significativamente menor con respecto a la serie control. También se han encontrado diferencias significativas en la recuperación del peso a las 11 semanas entre la serie II y las series III y IV, y entre las series isquémicas entre sí.

Conclusiones: Los animales de las series II, III, y IV alcanzaron al final del estudio un peso porcentual significativamente inferior que el alcanzado por la serie I. En los procesos de isquemia reperfusión mesentérica experimental animal, la pérdida de peso porcentual inicial en el postoperatorio, está influenciada no sólo por el tiempo de isquemia, sino por las manipulaciones pre y postoperatorias; en cambio, la pérdida de peso al final del estudio es más acentuada, cuanto mayor es el tiempo de isquemia.

(*Nutr Hosp* 2005, 20:415-419)

Palabras clave: *Peso. Isquemia mesentérica.*

Introducción

A pesar de los numerosos trabajos experimentales sobre isquemia intestinal, pocos investigadores han estudiado la relación del peso corporal con la isquemia aguda de la arteria mesentérica superior (AMS)¹.

Las alteraciones vasculares intestinales no pueden equipararse a las de otros órganos, por las peculiaridades estructurales especiales que ofrecen². La mucosa intestinal es la capa más sensible a los efectos de la isquemia mesentérica aguda, lo cual es debido, a que metabólicamente es la más activa, a la disposición particular de sus vasos nutricios, y a su proximidad a la flora bacteriana de la luz intestinal³.

Últimamente han ocurrido cambios en las interpretaciones fisiopatológicas del proceso isquémico, implicando a los radicales libres (RL) como agentes inductores de importantes lesiones titulares, locales y sistémicas⁴. En situaciones de isquemia-reperfusión tendría lugar una gran producción de RL, entre ellos, los radicales libres de oxígeno (RLO)⁵ posiblemente acompañados de una disminución de los sistemas de detoxificación fisiológica, siendo responsables al menos en parte, de las lesiones atribuidas hasta ahora a la isquemia⁶.

Los objetivos de nuestro trabajo experimental en conejos Nueva Zelanda son: 1) Ver si la pérdida inicial de peso está relacionada con la magnitud de la agresión provocada por los clampajes de la AMS durante 30 y 60 minutos; 2) Estudiar si la isquemia reperfusión puede dificultar la recuperación ponderal del peso en los animales supervivientes, al final de las 11 semanas del trabajo experimental.

El objetivo de nuestro trabajo es estudiar a nivel experimental, la evolución del peso porcentual durante 11 semanas en series de animales supervivientes (co-

Conclusions: Animals in series II, III, and IV reached at the end of the study a percentage weight significantly lower to that obtained by series I. In the experimental animal mesenteric ischemia-reperfusion processes, the initial percentage weight loss in the postsurgical period is influenced not only by ischemia time but also by pre-and postsurgical manipulations; by contrast, the longer ischemia time is, the greater weight loss at the end of the study will be.

(*Nutr Hosp* 2005, 20:415-419)

Key words: *Weight. Mesenteric ischemia.*

nejos Nueva Zelanda) después de sufrir una isquemia aguda mesentérica, y tras agresión quirúrgica sin isquemia mesentérica, con respecto a los animales que tienen una evolución natural del peso sin sufrir ningún tipo de manipulación quirúrgica, mediante un modelo experimental válido.

Material y métodos

Se utilizaron 80 conejos Nueva Zelanda de ambos géneros, con pesos corporales comprendidos entre 1.600 y 2.400 gramos, procedentes del animalario del Servicio de Medicina y Cirugía Experimental del Hospital Central de la Defensa de Madrid, y estabulados en condiciones estándar a temperatura de 22-24° C. Todos los animales eran homogéneos en edad, peso y sexo, y fueron asignados mediante tablas de números aleatorios a las diferentes series experimentales. Fueron pesados con la balanza semiautomática Arisó (Barcelona). Todos los animales fueron necropsiados, lo que permitió conocer la causa de la muerte en los fallecidos, y las lesiones histológicas en la mucosa intestinal de los animales supervivientes a la isquemia, al final del estudio experimental.

Los 80 conejos fueron distribuidos en las cuatro series siguientes:

– Serie I. Serie control, 20 conejos. Todos los animales fueron pesados durante 11 semanas, considerando “peso basal” el primer peso, ya que los conejos de esta serie no fueron sometidos a ningún procedimiento quirúrgico.

– Serie II. Serie operación simulada, 20 conejos. El estudio del modelo experimental se realizó mediante laparotomía y disección del tronco mesentérico, dejando la cavidad abdominal abierta 60 minutos, proce-

diendo posteriormente a su cierre. Todos los animales fueron pesados antes del procedimiento quirúrgico, y semanalmente en el postoperatorio, durante su supervivencia hasta un periodo de tiempo de 11 semanas.

– Serie III. Serie isquemia de la AMS durante 30 minutos, 20 conejos. Para el estudio del modelo experimental de isquemia mesentérica durante 30 minutos, estos animales fueron sometidos, tras el procedimiento general, al pinzamiento temporal de la AMS durante 30 minutos. Todos los animales fueron pesados antes del procedimiento quirúrgico, y semanalmente en el postoperatorio, durante su supervivencia hasta un periodo de tiempo de 11 semanas

– Serie IV. Serie isquemia de la AMS durante 60 minutos, 20 conejos. Para el estudio del modelo experimental de isquemia mesentérica durante 60 minutos, estos animales fueron sometidos, tras el procedimiento general, al clampaje temporal de la AMS durante 60 minutos. Todos los animales fueron pesados antes del procedimiento quirúrgico, y semanalmente en el postoperatorio, durante su supervivencia hasta un periodo de tiempo de 11 semanas

Se realizó premedicación con 5 mg/kg de clorpromazina por vía intramuscular e inducción con 22 mg/kg de tiopental sódico, a través de abbocath-T 24 G x 19 mm en la vena marginal de la oreja. Se mantuvo con flujo de oxígeno de 2 l/min mezclado con protóxido de nitrógeno al 40% y forane entre 1,5 y 2,5% por mascarilla conectada a un respirador volumétrico tipo Boyle Internacional. Mediante laparotomía se procedió al control de la AMS con una cinta de vesseloop, y posterior pinzamiento de ésta mediante “clampaje vascular atraumático” durante el tiempo de isquemia (30 y 60 minutos).

Con los datos obtenidos, tras el seguimiento del parámetro “Peso”, hemos realizado una comparación evolutiva a través del tiempo de cada una de las series. También hemos evaluado la evolución de los pesos en valores absolutos, y para homogeneizar las series, se ha reducido a un valor arbitrario de “100” el primer “peso”, mostrando de esta forma las diferentes respuestas del mismo a las distintas series.

Se estudiaron la variable independiente: tiempo (pesaje semanal), y la variable dependiente: incremento porcentual del peso corporal de las cuatro series, respecto a su situación basal. Para la estadística descriptiva, se empleó como índice de tendencia central la media aritmética, como índices de dispersión la desviación estándar de la media y el intervalo de confianza del 95%, y para la verificación del cumplimiento del supuesto de normalidad el test de Shapiro Wilks.

Para el análisis de los pesos se aplicó un ANOVA enfrentando la variación del peso porcentual en función de la serie.

Resultados

Para una mejor comprensión de la evolución de los pesos, hemos reflejado, por un lado la evolución del peso de cada serie con respecto al peso basal durante 11 semanas. Hemos porcentuado las distintas medias de los pesos durante el tiempo de observación, para una visualización más completa al compararla con la serie control de pesos.

Las cuatro series, respecto a su peso basal, presentaron un incremento estadísticamente significativo a lo largo de las 11 semanas de duración del estudio ($p < 0,0001$, en todos los casos). Sin embargo, dicho aumento no fue el

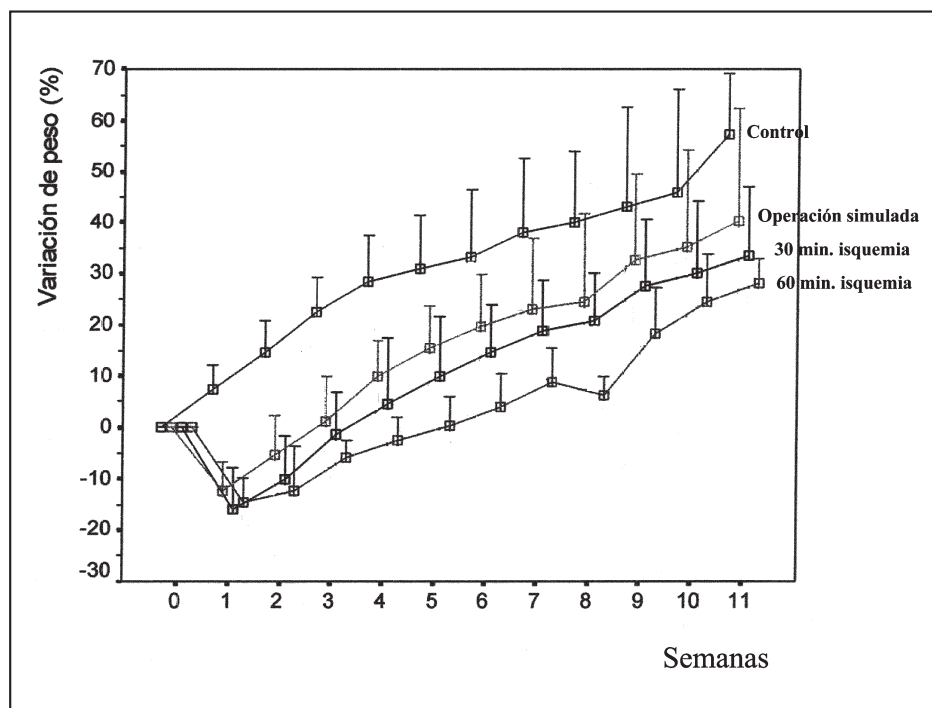


Fig 1.—Evolución de los pesos en las cuatro series durante el tiempo de observación.

mismo para las cuatro series. Al final de la experiencia, respecto de su situación basal, el peso se incrementó un 61% para la serie control, un 42% para la serie II, un 33% para la serie III y un 27% para la serie IV (fig. 1).

La serie control mostró un aumento de peso desde el mismo inicio del estudio con una estabilización durante el período comprendido entre la 7ª y 8ª semana, para posteriormente reanudar dicho incremento hasta el final de la experiencia. En cambio, la serie II ofreció una disminución significativa ($p < 0,0001$) del peso tras el procedimiento quirúrgico, y durante las tres primeras semanas recuperó los valores basales, para posteriormente ofrecer un incremento hasta el final del trabajo, con una fase de estabilización entre la 7ª y 8ª semanas. También las series III y IV mostraron un descenso significativo ($p < 0,001$) del peso tras el procedimiento quirúrgico, y durante las tres y cinco primeras semanas respectivamente recuperaron los valores basales, para continuar con un incremento hasta el final del período experimental. Las dos series isquémicas tuvieron un aumento significativo ($p < 0,0001$) de su peso porcentual al final de la experiencia, pero que correspondió sólo a la mitad del conseguido por la serie control.

Al comparar los pesos finales de las cuatro series se observaron diferencias estadísticamente significativas entre la serie control y las series II, III y IV para $p = 0,0001$, entre la serie II y la serie III para $p = 0,016$, entre la serie II y la IV para $p = 0,0001$, y entre las series III y la IV para $p = 0,026$.

Discusion

Al revisar la literatura no hemos encontrado trabajos experimentales que relacionen la evolución del peso total de animales durante un tiempo tan prolongado, después de ser sometidos a una isquemia mesentérica aguda, lo cual puede ser atribuido a que los autores revisados, no han hecho controles de supervivencia a tan largo plazo en sus trabajos experimentales. En cambio Kinghan y cols.⁷ comprobaron que tras la radiación corporal total en experimentación animal, las radiaciones ionizantes provocaban sobre la pared intestinal alteraciones similares a las producidas en los primeros estadios de la isquemia intestinal, con las consiguientes variaciones en el peso total de los animales, que han sido sometidos al síndrome de radiación.

Tras la instauración de la isquemia mesentérica aguda, el cambio más precoz detectado en la pared intestinal, es el despegamiento del epitelio de revestimiento superficial con la formación del espacio de Gruenhagen entre dichas células y la membrana basal. Las cúspides de las vellosidades acaban desnudándose, provocando una acumulación de epitelio necrótico con aparición de edema y hemorragias de la mucosa que se extienden progresivamente a la submucosa⁸ (fig. 2). Posteriormente, la mucosa se necrosa, ulcera y se desprende, con el consiguiente trastorno en la absorción intestinal y repercusión en el peso corporal de los animales correspondientes⁹.

No debemos olvidar que los cambios en las costumbres del animal estudiado, de su habitat, condiciones ambientales etc, pueden influir en las variaciones de su peso. En el estudio hemos establecido el límite del peso en 11 semanas, porque es entre uno y tres meses cuando se produce la estabilización de la recuperación de las lesiones en la mucosa intestinal¹⁰.

Es importante destacar el diferente comportamiento durante la primera semana de observación del trabajo experimental, de la serie I (serie control) y las series II, III y IV, ya que mientras, en la serie control se produce un aumento del peso de los animales desde el principio de la experiencia, en las series quirúrgicas (II, III y IV), ocurre todo lo contrario, lo cual puede ser justificado por la ausencia de agresiones quirúrgicas y de manipulaciones en los animales (excepto el pesaje) que pudieran provocar situaciones de estrés o ansiedad en la serie I que desembocasen en un estado de malnutrición y consecuentemente en una pérdida de peso. Sin embargo, las series II, III y IV sufren de forma homogénea una pérdida de peso significativa durante la primera semana del trabajo experimental, lo cual puede ser atribuido a un estado de malnutrición provocado por una causa común inespecífica relacionada con la agresión quirúrgica (isquémica y no isquémicas) y manipulaciones pre y postoperatorias. Esta suposición se ve reforzada por el hecho de que en todas las series tratadas quirúrgicamente (II, III y IV) tanto isquémicas como no isquémica, entre la 3ª y 5ª semanas del evento quirúrgico, se produce una recuperación del peso de todas ellas. Por lo tanto, estos resultados indicarían que la variación del peso durante la primera semana del procedimiento quirúrgico, no se debería exclusivamente al síndrome de isquemia reperfusión, sino que habría otros factores que repercutirían en dicha variación, como son los procedimientos anestésicos, preoperatorios, quirúrgicos y postoperatorios. Lo mismo ocurre en el síndrome de radiación, ya que Pospisil y cols.¹¹ en ratones, y Geraci y cols.¹² en ratas, encontraron un decremento significativo del peso tras ser sometidos a radiación corporal total.

Al estudiar en la serie I, la evolución del peso con respecto al peso basal, hemos encontrado un incremen-

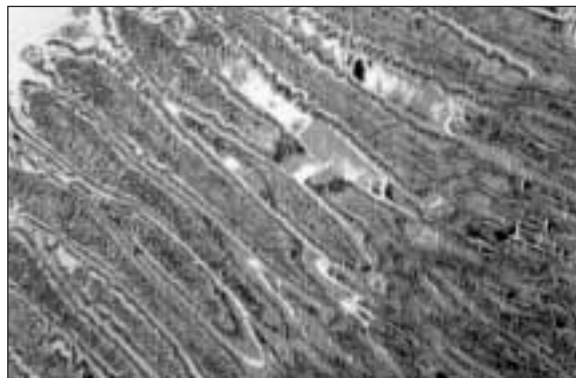


Fig. 2.—Mucosa de intestino delgado en animal que ha sufrido isquemia mesentérica aguda, con reconocimiento de las vellosidades intestinales y necrosis aguda hemorrágica. H.E.x 80.

to lineal que va desde el 100% para el peso basal hasta el 161% al final del periodo de observación, lo cual puede atribuirse al crecimiento normal de los animales. El resto de las series, aunque al final del periodo de observación, también experimentan un incremento lineal del peso que corresponden a 142% para la serie II, 133% serie III y 127% para la serie IV, con respecto a su peso basal (100%). Sin embargo mantienen la diferencia significativa del peso con respecto a la serie control, lo cual puede ser debido, por un lado, a que el síndrome de isquemia reperfusión¹³ ha creado una intolerancia digestiva por la denudación vellositaria intestinal en la series que sufren isquemia mesentérica (a los 60 minutos se produce una destrucción completa de las microvellosidades), y por otra parte las manipulaciones pre y anestésicas, quirúrgicas y postoperatorias, han provocado en los animales un estado de ansiedad que se traduce en una malnutrición, que los animales son incapaces de superar por sí mismos.

También tenemos que resaltar, que la presencia de la diferencia significativa del peso al final del periodo de observación (11 semanas) entre la serie operación simulada (serie II) y las series isquémicas (III y IV) puede ser atribuido a las lesiones de la mucosa intestinal, provocadas por el síndrome de isquemia reperfusión, que no permite recuperar todo el lecho vellositario (fig. 3)

Al revisar los modelos experimentales de isquemia reperfusión de Chiu y cols.¹⁴ y Caridis¹⁵ comprobamos que se producen pérdidas de líquidos, debidas fundamentalmente a la evaporación de las asas intestinales durante el tiempo quirúrgico, que pueden provocar trastornos hemodinámicos en los animales y conducir a un retraso en la regeneración de la mucosa intestinal, así como una coacción ascítica postoperatoria, pudiendo todo ello conducir a una malnutrición crónica, que sería más acentuada en los animales que sufrieran una isquemia más prolongada (en la serie IV se produce una denudación completa de las vellosidades intestinales), como ocurre en nuestro caso, lo que justificaría la diferencia significativa del peso al final de las 11 semanas, entre las series isquémicas III y IV⁹.



Fig. 3.—Mucosa intestinal con recuperación parcial del lecho vellositario, en animal que ha sufrido isquemia mesentérica aguda, al final del periodo de observación.

En todas las series, tanto quirúrgicas como no quirúrgicas, se observó una tendencia a la estabilización en el peso porcentual, entre la 7ª y 8ª semanas, lo cual podría ser justificado por la presencia de factores espúreos que son difíciles de controlar durante un periodo tan largo de tiempo.

Conclusiones

1. En las series II, III, y IV los animales alcanzan un peso porcentual significativamente inferior que el alcanzado por la serie I (serie control).

2. La pérdida de peso porcentual inicial de las series II, III, y IV, no está relacionado solamente con la isquemia mesentérica, sino con una causa común inespecífica relacionada con las manipulaciones anestésicas, procedimientos quirúrgicos inespecíficos y postoperatorios

3. La pérdida de peso porcentual al final del estudio (11 semanas), es más acentuada significativamente, cuanto mayor es el tiempo de isquemia mesentérica en nuestro modelo experimental.

Referencias

- Ortiz Lacorzana J, García Alonso MI, Portugal Porras V, Méndez Martín J. Influencia del peso corporal y del período de isquemia mesentérica aguda en la mortalidad de ratas sometidas a revascularización intestinal. *Rev Esp Enf Digest* 1990; 77(4):263-267.
- Vaquero Puerta C, Gutierrez Alonso V, González González E, Alvarez Conde JL: Prevención del daño intestinal mediante la utilización de un antagonista del factor de activación plaquetaria en el trasplante intestinal. *Rev Cubana Cir* 1997; 36(1):70-74.
- Williams RA, Wilson SE. A model for the study of nonocclusive intestinal ischemia. *Br J Exp Pathol* 1980; 61: 461-464.
- Parks DA, Granger DN. Contributions of ischemia and reperfusion to mucosa lesion formation. *Am J Physiol* 1986; 250:749-753.
- Granger DN, Höllwarth ME, Parks DA. Ischemia reperfusion injury role of oxygen derived free radicals. *Acta Physiol Scand* 1986; 548:47-46.
- Granger DN, Rutili G, McCord JM. Superoxide radicals in feline intestinal ischemia. *Gastroenterology* 1981; 81 :22-29.
- Kinghan JL, Lochry GA. Permeability to the small intestine alter intraarterial injection of hystamine type mediators and irradiation. *Gut* 1976; 17:517-526.
- Chiu CJ, McArle AH, Brown R, Scott HJ, Gurd FN. Intestinal mucosal lesions in low-flow states I. A morphological , hemodynamic and metabolic reappraisal. *Arch Surg* 1970; 101:478-483.
- Klein S, Alpers DH, Grand RJ, Levin MS, Lin HC, Mansbach CM y cols.: Advances in Nutrition and Gastroenterology: Summary of the 1997 A:S:E:N: Research Weekshop. *JPEN* 1998; 22(1):2-13.
- Kinsella TJ, Bloomer WD. Tolerance of the intestine to radiation therapy. *Surg Gynecol Obstet* 1980: 151:273-284.
- Pospisil M, Pivalova I, Novacek I. Therapeutic efficiency of olaquinox in gamma irradiated mice. *Strahlenther Onkol* 1986; 162(12):793-797.
- Geraci JP, Jackson KL, Mariano MS: Fluid and sodium loss in whole body irradiated rats. *Radiat Res* 1987; 111(3):518-532.
- Panés J, Granger DN: Neutrophils generate oxygen free radicals in rat mesenteric microcirculation after abdominal irradiation. *Gastroenterology* 1996; 111:981-989.
- Chiu CJ, Scott HJ, Gurd FN: Volumen deficit toxic absorption: a study of canine shock after mesenteric arterial occlusion. *Ann Surg* 1972; 175(4):479-488.
- Caridis DT. Treatment of acute ischemia of the intestine by peritoneal lavage in the rabbit. *Surg Gynecol Obstet* 1973; 35:199-202.