

**UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN**  
**ESCUELA DE POSGRADO**  
**CIENCIAS DE LA SALUD**



**EFEECTO DE LA ERITROPOYETINA EN LA PREVENCIÓN DE  
LA ENTEROCOLITIS NECROTIZANTE EN UN MODELO  
EXPERIMENTAL ISQUÉMICO EN RATAS INSTITUTO  
NACIONAL DE SALUD DEL NIÑO**

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: CIENCIAS DE LA SALUD**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS  
DE LA SALUD**

**TESISTA: VILLALOBOS ALVA JENNY BEATRIZ**

**ASESOR: DR. MORE FLORES MARIO MARCELINO**

**HUÁNUCO – PERÚ**

**2021**

## **DEDICATORIA**

A mis padres, por producir inspiración en los trabajos que hago.

A cada uno de los miembros de mi familia, por su apoyo espiritual y aprecio que me tienen.

## AGRADECIMIENTO

- A las personas con quienes he compartido las experiencias profesionales. Por haber producido una convivencia constructiva. No obstante, lo complicado y comprometido que significa hacer agradecimientos, quiero expresar mi gratitud a las siguientes personas:
- Al personal profesional del Instituto Nacional del Niño, por el apoyo institucional para hacer la tesis.
- Al Instituto Nacional del Niño, y a los profesionales que han participado voluntariamente en este estudio, por brindarme sus experiencias en sus trabajos de investigación, confianza y su colaboración.
- A cada uno de los docentes del Doctorado en Ciencias de la Salud de la Universidad Hermilio Valdizán, por su confianza, sus acertadas orientaciones, sus enseñanzas en cada una de las asignaturas y especialmente en las asignaturas del área de investigación, porqueme prepararon para aprender investigación y hacer la tesis.
- A los docentes a quienes les encargaron la asesoría de la tesis, evaluación del proyecto de investigación y la elaboración del Informe final. Sin el apoyo incondicional de estas personas la tesis hubiera sido más difícil de hacer.
- A mi asesor de tesis el Dr. Mario Marcelino More Flores quien me impulso a continuarcon el desarrollo de mi vida profesional y culminar el presente trabajo de investigación.

## RESUMEN

La enterocolitis necrotizante (NEC) es la enfermedad gastrointestinal más común adquirida en el recién nacido prematuro. Se caracteriza por la aparición de lesiones isquémicas en el intestino delgado y el colon a veces puede progresar a necrosis mural trans y la perforación de la pared intestinal, a nivel mundial no hay tratamiento para esta entidad. Objetivo: Determinar el efecto de la eritropoyetina sobre la necrosis intestinal producida por la ligadura alternada de arterias mesentéricas radiales. Material Métodos: estudio experimental en ratas. Se Incluyeron 84 ratas albinas, que fueron divididos en 2 grupos: El grupo A, sufrieron la aplicación de 500 UI/ uso subcutáneo de eritropoyetina. durante siete días seguidos de ligadura alternado de las arterias mesentéricas radiados durante 60 minutos. En el grupo B se le aplico suero fisiológico 0,5ml en la misma hora indicada que el grupo A, seguido de ligadura alternadamente durante 60 minutos, de las arterias mesentéricas radiadas del intestino. El grupo de animales experimental 42 (100%), que recibió tratamiento previo con eritropoyetina. En el 83.33 % de los casos, presentaron grados leves de necrosis (grado I y II escala de Chiud). El grupo CONTROL 42 (100%) animales tratados solo con suero fisiológico en el 50 % de los casos, presentaron grados severos de necrosis (grado III y IV escala de Chiud). Conclusión. La aplicación de la eritropoyetina, siete días antes de la ligadura de arterias mesentéricas radiales el intestino, tiene un efecto protector en el tejido intestinal contra la necrosis causada por isquemia. en el modelo animal de enterocolitis necrotizante.

**Palabras claves:** Eritropoyetina, enterocolitis necrotizante, efecto Protector Eritropoyetina.

## ABSTRACT

Necrotizing enterocolitis (NEC) is the most common gastrointestinal disease acquired in the premature newborn. It is characterized by the appearance of ischemic lesions in the small intestine and the colon can sometimes progress to transmural necrosis and perforation of the intestinal wall, worldwide there is no treatment for this entity. Objective: To determine the effect of erythropoietin on intestinal necrosis caused by alternate ligation of radial mesenteric arteries. Material Methods: experimental study in rats. 84 albino rats were included, which were divided into 2 groups: Group A, suffered the application of 500 IU / subcutaneous use of erythropoietin. for seven days followed by alternate ligation of the radiated mesenteric arteries for 60 minutes. In group B, 0.5 ml physiological serum was applied at the same time indicated as group A, followed by alternate ligation for 60 minutes, of the radiated mesenteric arteries of the intestine. **Results** The experimental animal group 42 (100%), which received previous treatment with erythropoietin. In 83.33% of the cases, they presented mild degrees of necrosis (grade I and II Chiud scale) The CONTROL group 42 (100%) animals treated only with physiological serum in 50% of the cases, presented severe degrees of necrosis (grade III and IV Chiud scale). **Conclusion.** The application of erythropoietin, seven days before the ligation of radial mesenteric arteries in the intestine, has a protective effect on the intestinal tissue against necrosis caused by ischemia. in the animal model of necrotizing enterocolitis.

**Keywords:** Erythropoietin, necrotizing enterocolitis, erythropoietin protective effect.

## RESUMO

A enterocolite necrosante (ECN) é a doença gastrointestinal mais comum adquirida em recém-nascidos prematuros. Caracteriza-se pelo aparecimento de lesões isquêmicas no intestino delgado e cólon, que por vezes podem evoluir para necrose transmural e perfuração da parede intestinal, não existindo tratamento mundial para esta entidade. Objetivo: Determinar o efeito da eritropoietina na necrose intestinal produzida pela ligadura alternada das artérias mesentéricas radiais. Métodos Materiais: estudo experimental em ratos. Foram incluídos 84 ratos albinos, que foram divididos em 2 grupos: Grupo A, submetido à aplicação de 500 UI/via subcutânea de eritropoietina. por sete dias seguido de ligadura alternada das artérias mesentéricas irradiadas por 60 minutos. No grupo B, foram aplicados 0,5 ml de soro fisiológico no mesmo horário indicado no grupo A, seguido de ligadura, alternadamente por 60 minutos, das artérias mesentéricas irradiadas do intestino. O grupo experimental de animais 42 (100%), que recebeu tratamento prévio com eritropoietina. Em 83,33% dos casos apresentavam graus leves de necrose (graus I e II da escala de Chiud). No grupo CONTROLE 42 (100%) animais tratados apenas com soro fisiológico, em 50% dos casos, apresentaram graus severos de necrose (graus III e IV na escala de Chiud). Conclusão. A aplicação de eritropoietina, sete dias antes da ligadura das artérias mesentéricas radiais do intestino, tem efeito protetor do tecido intestinal contra necrose causada por isquemia. no modelo animal de enterocolite necrosante.

**Palavras chave:** Eritropoietina, enterocolite necrosante, Eritropoietina Efeito protetor.

## ÍNDICE

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO .....	iii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT.....	v
RESUMO .....	vi
ÍNDICE .....	vii
INTRODUCCIÓN .....	ix
CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	1
1.1. Fundamentación del problema .....	11
1.2. Justificación e importancia .....	12
1.3. Viabilidad de la investigación .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
1.4. Formulación del problema.....	13
1.4.1. Problema general.....	13
1.4.2. Problemas específicos .....	14
1.5. Formulación del objetivo.....	14
1.5.1. Objetivo general .....	14
1.5.2. Objetivos Específicos.....	14
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO .....	15
2.1. Antecedentes de estudio .....	15
2.2. Bases teóricas .....	18
2.3. Bases conceptuales .....	22
2.4. Bases filosóficas .....	28
2.5. Bases epistemológicas .....	29

2.6. Bases antropológicas .....	30
CAPÍTULO III. SISTEMA DE HIPÓTESIS .....	31
3.1. Formulación de hipótesis.....	31
3.1.1. Hipótesis general .....	31
3.1.2. Hipótesis específicas .....	31
3.2. Variables .....	31
3.3. Operacionalización de variable .....	31
3.4. Definición de términos operacionales .....	32
CAPÍTULO IV. MARCO METODOLÓGICO.....	35
4.1. Ámbito.....	35
4.2. Nivel y tipo de estudio.....	35
4.3. Población y muestra .....	36
4.4. Diseño de investigación.....	37
4.5. Técnicas e instrumentos.....	38
4.6. Técnica para el procedimiento y análisis de datos .....	39
4.7. Aspectos éticos .....	42
CAPÍTULO V. RESULTADOS .....	44
5.1. Análisis descriptivo .....	44
5.2. Análisis inferencial y contrastación de hipótesis .....	45
5.3. Discusión de resultados .....	47
5.4. Aporte científico de la Investigación .....	50
CONCLUSIONES .....	51
SUGERENCIAS .....	52
REFERENCIAS .....	53
ANEXOS .....	60



## INTRODUCCIÓN

La presente investigación se refiere al tema de Enterocolitis necrotizante lo cual es una enfermedad inflamatoria intestinal grave que afecta a los recién nacidos, especialmente a los prematuros, en los que se produce lesiones de la pared intestinal y en la mayoría de los casos puede llevar a los pacientes a graves cuadros de abdomen agudo (perforación intestinal) con consecuencia funesta en las que sobrevivan. Una vez establecida esta enfermedad, no existe tratamiento, conocido a nivel mundial.

Desde el punto de vista profesional queremos contribuir con la salud de nuestros niños, y poder generar un tratamiento que atenúe y mejore esta enfermedad de nuestros pequeños pacientes.

El presente trabajo de “Efecto de la eritropoyetina en la prevención de la enterocolitis necrotizante en un modelo experimental en ratas Instituto Nacional de Salud del Niño” pretende comprobar que la eritropoyetina puede contribuir en disminuir el grado de necrosis intestinal en estos pacientes con su uso.

La presente investigación consta de:

En el Capítulo I se describe el problema a investigar, su justificación e importancia de este, se plantea la interrogante ¿Cuál es el efecto de la eritropoyetina recombinante en la prevención de la necrosis intestinal en el modelo experimental? Se plantea los objetivos generales y específicos, así como la hipótesis alternativa en la cual se afirma que la eritropoyetina recombinante tiene un efecto protector sobre la necrosis intestinal en un modelo experimental de necrosis. Se describen las variables dependientes y el grado de necrosis de acuerdo con la escala de Chiud, así como la variable independiente que es la acción de la eritropoyetina, en este capítulo también se describe la escala de grados de necrosis de acuerdo con Chiud.

El Capítulo II, trata del marco teórico y describe los aspectos monográficos de la enterocolitis necrotizante y los antecedentes de la acción de la eritropoyetina en la prevención de los recién nacidos con enterocolitis necrotizante y el uso de esta en la prevención de la necrosis renal e intestinal.

En el Capítulo III, trata de la metodología, como el trabajo de tipo experimental se realizó en el Servicio de Cirugía Experimental del Instituto Nacional de Salud del Niño ubicado en Breña, se describe el cálculo del tamaño muestral utilizando la fórmula para la comparación de dos proporciones, se describe el procedimiento utilizado en los dos grupos, tanto el grupo control como el experimental y la comparación histológica utilizando la escala de Chiud.

En el capítulo IV se describen las frecuencias asociados a los grados de necrosis tanto en los grupos control y experimental, también se describe la prueba de comparación de dos proporciones así como la prueba exacta de Fisher, para comprobar la hipótesis, la cual demostró un efecto protector de la eritropoyetina, en este capítulo también se realiza la discusión de los resultados y se explica porque la eritropoyetina tiene un efecto protector, se incluyen las conclusiones y las recomendaciones, la bibliografía y las fotografías del procedimiento en las ratas recién nacidas, así como las microfotografías de los grados de las necrosis intestinal

En la redacción del presente trabajo se han seguido las pautas para tesis de enfoque cuantitativo, recomendada por la escuela de posgrado de la Universidad Hermilio Valdizán de Huánuco.

# CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

## 1.1. Fundamentación del problema

La Enterocolitis Necrotizante es una enfermedad letal que comúnmente afecta al paciente prematuro, neonato con bajo peso, sufrimiento fetal y lactantes por problemas gastroentéricos.<sup>1</sup>

Esta patología se caracteriza por necrosis de la mucosa intestinal de longitud y espesor variable, con perforación en más de un tercio de los afectados quienes presentan cuadros severos de sepsis que lleva falla multiorgánica<sup>7,8,9,11,13,14</sup>.

En la actualidad a pesar del gran interés clínico por la enterocolitis necrotizante aún permanece como una enfermedad de etiología y patogénesis incierta<sup>2,3,12,15</sup>

Su tasa de mortalidad en las unidades de cuidados intensivos es del 20 al 50% y en nuestro medio es del 92%. Una vez que la enfermedad se ha establecido poco se puede hacer para alterar el curso de esta<sup>6,16,11</sup>

De allí la necesidad de ensayar tratamientos que ofrezcan la oportunidad, evitar la necrosis intestinal y sus consecuencias posteriores. Por esta razón desde el punto de vista experimental se han ensayado una serie de tratamientos como utilización de fármacos que bloquean la respuesta inmunológica, uso de anticuerpos monoclonales como el anti TNF, anti PFA, ibuprofeno, corticoides, n- acetil cisteína<sup>4,5,10,12</sup>

En trabajos de investigaciones se ha descrito el efecto protector de la eritropoyetina en la prevención de la necrosis renal<sup>55</sup>

El efecto protector de la Eritropoyetina sobre el desarrollo de la Enterocolitis Necrotizante, no ha sido probado en el modelo de necrosis isquémica del intestino por ligadura alterna de las arterias mesentéricas radiales del intestino de la rata.<sup>10,11</sup>

El propósito de esta investigación fue, conocer el efecto de la eritropoyetina en la prevención de la necrosis intestinal en este modelo experimental, en ratas.

## 1.2. Justificación e importancia

En el INSN en 1985 se realizó un estudio descriptivo sobre 25 casos de NEC en lactantes y se encontró una mortalidad del 92%<sup>10,11</sup>. Es la emergencia gastrointestinal neonatal más prevalente. La prematuridad y el bajo peso al nacer son factores de riesgo significativos asociados con su incidencia, gravedad, tasa de mortalidad y complicaciones. En los últimos años, se ha observado un aumento en su incidencia debido al incremento en el número de nacimientos prematuros y la supervivencia de neonatos prematuros<sup>12</sup>. Aunque la mayoría de los casos son esporádicos, se han registrado brotes vinculados a infecciones, especialmente las adquiridas en entornos hospitalarios.<sup>20</sup>. Ahí radica la justificación del problema: se requiere que el investigador busque tratamientos preventivos para reducir la progresión de esta enfermedad. Se caracteriza por la presencia de lesiones isquémicas en el intestino delgado y el colon, que en algunos casos pueden evolucionar hacia necrosis transmural y perforación de la pared intestinal. Por tanto, se trata de una de las urgencias quirúrgicas neonatales más comunes.

La relevancia de este estudio reside en que, por primera vez, se emplea un modelo experimental para inducir la enterocolitis necrotizante, evaluando la eficacia de la eritropoyetina recombinante en la prevención de la necrosis intestinal en dicho modelo animal. Esta investigación es pertinente dado que, hasta el momento, no se ha encontrado una cura o una forma de prevención efectiva en países latinoamericanos y en todo el mundo que pueda salvar la vida de los pacientes afectados por esta enfermedad.

Desde una perspectiva teórica, la justificación radica en la necesidad de comprender si los efectos antiinflamatorios de la eritropoyetina y su capacidad preventiva en la necrosis renal se extienden al proceso de necrosis intestinal en el modelo animal.

En caso de obtener resultados positivos en esta investigación, podría considerarse la posibilidad de utilizar la eritropoyetina como medida preventiva de la enterocolitis necrotizante en situaciones de emergencia en infantes afectados por esta enfermedad. Esto sería especialmente relevante dado que la eritropoyetina se utiliza con seguridad para elevar los niveles de hemoglobina en pacientes con anemia.

### **1.3.1. Importancia o propósito**

El propósito de nuestro estudio fue de carácter doble: En primer lugar, buscar una solución preventiva al proceso de necrosis intestinal en curso, utilizando un medicamento como es la Eritropoyetina recombinante humana, en el modelo animal, con la finalidad de aplicar esta terapia en recién nacidos, con riesgo de padecer enterocolitis necrotizante <sup>7</sup>

El segundo propósito fue presentar este estudio para obtener el grado de Doctor en Ciencias de la Salud, en la unidad de post. Grado de la Universidad Hermilio Valdizán.

### **1.3. Viabilidad de la investigación**

La investigación fue viable porque no hubo dificultades en lo concerniente a los recursos financieros. Se contó con todos los requerimientos de materiales e instrumentos. Se tuvo las facilidades al alcance del investigador, ya sea económica, administrativa y tecnológico gracias al apoyo profesional, tanto en lo que respecta al personal que labora en el Instituto de Salud de Niño y lo que respecta al apoyo externo, tampoco hubo dificultades para contar con un estadístico, todo esto con una eficaz asesoría metodológica. Y sobre todo este estudio se realizó en un modelo experimental en animales con la debida ética necesaria, con los permisos correspondientes por parte de la institución y con la participación de un médico veterinario para ofrecer todas las medidas de sedación necesaria y se evitó el sufrimiento de los animales

### **1.4. Formulación del problema**

#### **1.4.1. Problema general**

¿Cuál es el efecto de la Eritropoyetina en la prevención de la enterocolitis necrotizante Utilizando un modelo experimental en el que se ligan los vasos sanguíneos y linfáticos mesentéricos en forma alternada en

ratas?

#### **1.4.2. Problemas específicos**

- ¿Cuál es el grado de necrosis intestinal de acuerdo a la escala de Chiud, en el grupo experimental que recibió eritropoyetina durante siete días previos a la ligadura de vasos sanguíneos y linfáticos mesentéricos?
- ¿Cuál es el grado de necrosis intestinal de acuerdo a la escala de Chiud en el grupo experimental con ligadura de vasos sanguíneos y linfáticos mesentéricos a quienes se les aplica suero fisiológico siete días antes. Luego ligadura por 60 min y después retiro del tejido?

### **1.5. Formulación del objetivo**

#### **1.5.1. Objetivo general**

Determinar el efecto protector de la eritropoyetina sobre la necrosis intestinal producida por la ligadura alterna de los vasos sanguíneos y linfáticos mesentéricos.

#### **1.5.2. Objetivos Específicos**

- Evaluar el grado de necrosis intestinal de acuerdo con la escala de Chiud, en el grupo de animales que recibió eritropoyetina durante 7 días previos a la ligadura de vasos sanguíneos y linfáticos mesentéricos.
- Precisar el grado de necrosis intestinal de acuerdo con la escala de Chiud en el grupo experimental con ligadura de vasos sanguíneos y linfáticos mesentéricos a quienes se les aplica suero fisiológico 7 días antes. Luego ligadura por 60 minutos y después retiro del tejido.

## CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes de investigación

La frecuencia de la necrotizante enterocolitis (NEC) se sitúa entre 1 y 3 casos por cada mil recién nacidos vivos, según informes 22,23. Esta condición afecta al 5% de los niños con peso bajo al nacer, y aumenta al 10% en aquellos con peso muy bajo. Un porcentaje significativo, que oscila entre el 30% y el 50%, necesitará procedimientos quirúrgicos, y la tasa de mortalidad en este grupo es considerablemente elevada <sup>24</sup>

La causa precisa de la necrotizante enterocolitis (NEC) aún no se comprende completamente. Se han identificado varios factores en su origen, entre los cuales se destaca la falta de madurez del sistema inmunológico de la mucosa intestinal, la insuficiente perfusión sanguínea, la presencia de sustancias hiperosmolares en la alimentación y la exposición a agentes infecciosos. Gracias al diagnóstico precoz, los avances en la atención neonatal y, en ocasiones, la intervención quirúrgica, se ha logrado una disminución considerable en la tasa de mortalidad, aunque esta persiste en alrededor del 25%. No hay un tratamiento específico, y las medidas conservadoras son la estrategia principal una vez que la enfermedad se manifiesta.

Aunque la intervención quirúrgica temprana ha tenido un impacto notable en la mejora de la supervivencia, las consecuencias de las resecciones intestinales extensas son diversas. Uno de los resultados más destacados es el síndrome del intestino corto, que conlleva la necesidad de depender de una alimentación parenteral prolongada, junto con todos sus posibles efectos secundarios. <sup>26,27</sup>

Gracias a los avances en la atención ofrecida en las unidades neonatales, la tasa de supervivencia de los recién nacidos prematuros está en aumento, lo que resulta en un crecimiento del número de pacientes con un alto riesgo de padecer esta enfermedad. Por consiguiente, es esencial no solo investigar y desarrollar nuevas modalidades de tratamiento, sino también establecer métodos preventivos que puedan aplicarse a aquellos pacientes con un riesgo elevado.

La eritropoyetina (Epo) es una hormona producida por el riñón en respuesta a la anemia. Su función principal es regular la producción de glóbulos rojos

mediante la interacción con receptores celulares específicos, lo que inhibe la apoptosis y estimula la maduración celular. Desde 1985, la eritropoyetina recombinante se ha utilizado como tratamiento para la anemia durante el embarazo<sup>28</sup>. La presencia de eritropoyetina (Epo) en la leche humana<sup>29</sup> y la existencia de receptores funcionales de Epo en el intestino delgado fetal y postnatal sugieren su posible papel en el crecimiento y desarrollo del tracto gastrointestinal. Además, estudios epidemiológicos indican que el riesgo de desarrollar enterocolitis necrosante (NEC) es menor en recién nacidos prematuros cuyas madres fueron tratadas con Epo durante el embarazo<sup>32</sup>. Dado estos hallazgos, nuestra hipótesis plantea que la administración subcutánea de eritropoyetina recombinante podría tener un efecto protector en el desarrollo de la enterocolitis necrosante (NEC). El propósito de este proyecto de investigación es evaluar el impacto preventivo de la eritropoyetina administrada por vía subcutánea en un modelo experimental utilizando ratas de 15 días de vida.

La eritropoyetina (Epo) no solo tiene un papel fundamental como factor trófico en el desarrollo del intestino durante el periodo neonatal, como se mencionó previamente, sino que también se ha sugerido que podría tener un efecto preventivo en las lesiones intestinales asociadas a patologías como la gastrosquisis.. Este efecto preventivo se postula especialmente en las lesiones que afectan al tejido intestinal <sup>12</sup>. Un estudio relevante en este contexto es el llevado a cabo por Ledbetter y Juul<sup>56</sup>. Basándose en investigaciones previas de este grupo acerca del impacto de la eritropoyetina (Epo) en el intestino inmaduro, los autores formularon la hipótesis de que la administración de eritropoyetina recombinante a recién nacidos prematuros, ya sea como medida preventiva o como tratamiento de la anemia, podría tener un efecto protector en el desarrollo de la enterocolitis necrosante (NEC). Para examinar esta hipótesis, llevaron a cabo un estudio retrospectivo de cohortes, recopilando información de una base de datos mantenida de manera prospectiva. En este estudio, los investigadores eligieron recién nacidos prematuros con un peso al nacer superior a 500 gramos pero inferior a 1250 gramos. Aquellos que habían sido sometidos a tratamiento con eritropoyetina (Epo) en cualquier momento antes de desarrollar enterocolitis necrosante (ECN), en caso de que esta ocurriera, fueron asignados al grupo de Epo recombinante (rEpo). Por otro lado, aquellos que nunca recibieron Epo



recombinante o que la recibieron después del diagnóstico de la NEC fueron asignados al grupo de control.

La variable principal evaluada en el estudio fue el diagnóstico de enterocolitis necrosante (ECN) en estadio II o III según la clasificación de Bell. Al analizar un total de 483 recién nacidos, se observó que 260 (54%) recibieron eritropoyetina (Epo), mientras que 223 (46%) fueron asignados al grupo de control. Ambos grupos presentaron similitudes en cuanto a las características basales. El resultado más notable fue una menor incidencia de enterocolitis necrosante (ECN), con 12 casos de 260 (4.6%) en el grupo que fue tratado con eritropoyetina (Epo), en contraste con 24 de 223 (10.8%) recién nacidos que no recibieron Epo ( $p=0.028$ ).

La gravedad de la enterocolitis necrosante (NEC), clasificada según los criterios de Bell, fue similar en ambos grupos. Aunque existen limitaciones metodológicas inherentes a un estudio retrospectivo no controlado, los resultados de este trabajo han establecido una base para investigaciones adicionales sobre el posible papel de la eritropoyetina (Epo) en la prevención de la NEC.

En un sentido diferente, se ha examinado el impacto de la eritropoyetina (Epo) en dos estudios experimentales de enterocolitis necrosante (NEC) utilizando el modelo de hipoxia-reoxigenación. Sin embargo, hasta el momento, los resultados obtenidos han sido contradictorios.<sup>53,57</sup>

Por otra parte, diversos estudios han respaldado el efecto protector de la eritropoyetina (Epo) en lesiones provocadas por isquemia-reperfusión en varios órganos, incluido el intestino. No obstante, es importante resaltar que todos estos estudios han empleado modelos con ratas adultas. Hasta ahora, no se ha explorado el impacto de la eritropoyetina (Epo) en lesiones por isquemia-reperfusión en ratas recién nacidas. En estas investigaciones, se han propuesto diversos mecanismos de acción para explicar el efecto de la Epo, entre los cuales se incluyen la inhibición de la formación de óxido nítrico, la reducción del estrés oxidativo y la inhibición de la apoptosis. A pesar de los estudios mencionados, la pregunta sobre el impacto beneficioso de la eritropoyetina (Epo) en la enterocolitis necrosante (ECN) sigue siendo motivo de controversia.

Después del estudio de Ledbetter y Juul<sup>12</sup>, no se ha realizado ningún otro estudio

clínico aleatorizado para investigar si la eritropoyetina previene la enterocolitis necrosante en recién nacidos prematuros y/o de bajo peso. A pesar de ello, es importante destacar que las revisiones sistemáticas realizadas por la Cochrane Library sobre la administración de eritropoyetina (Epo) para prevenir la anemia en recién nacidos prematuros pueden ofrecer información adicional sobre posibles efectos de la Epo en otros aspectos de la salud neonatal <sup>46,54</sup>. Aunque no se evidenció una disminución significativa en la incidencia de enterocolitis necrosante (ECN) vinculada a ese tratamiento, es fundamental destacar que ninguno de los estudios incorporados había sido planificado con ese propósito específico. Por lo tanto, se aguarda la realización de un ensayo clínico controlado, y es imperativo proseguir con la investigación en modelos experimentales para profundizar en la comprensión del efecto de la eritropoyetina (Epo) en la ECN y sus mecanismos de acción.

## **2.2. Bases teóricas**

### **2.2.1. Entero colitis necrotizante (NEC)**

La enterocolitis necrosante (ECN) es la patología digestiva adquirida más común y grave, especialmente durante el periodo neonatal. A pesar de que se tiene conocimiento de esta entidad desde hace más de 100 años, su etiología aún no se comprende completamente, lo que complica su prevención. La isquemia, el crecimiento bacteriano excesivo y la respuesta inflamatoria sistémica desempeñan un papel destacado en el desarrollo de la enterocolitis necrosante (ECN), y el resultado común en todos los casos es la necrosis del intestino, ya sea con o sin perforación intestinal. El tratamiento, especialmente en casos avanzados, continúa siendo objeto de controversia, y la mortalidad sigue siendo elevada a pesar de los avances en la comprensión y manejo de la enfermedad. <sup>1,3,4,10</sup>.

### **2.2.2. Etiología y Patogénesis**

La etiología de la enterocolitis necrotizante (ECN) es desconocida, pero

la mayoría de los estudios sugieren que es multifactorial. En 1975, Santulli y colaboradores propusieron que tres factores esenciales participan en el desarrollo de la enfermedad: la lesión hipóxico-isquémica de la mucosa inmadura, la alimentación artificial, especialmente en prematuros, y la presencia de bacterias, considerada como un factor inductor o concomitante del proceso

33

La mayor susceptibilidad de los niños prematuros se atribuye a la inmadurez de varios aspectos, incluyendo la motilidad intestinal, la función digestiva, la regulación del flujo sanguíneo mesentérico, así como a aspectos inmunológicos, tanto locales como sistémicos<sup>58</sup>

### **2.2.3. Fisiopatología de la enterocolitis necrotizante**

La fisiopatología de la enterocolitis necrotizante (ECN), debido a las causas mencionadas previamente en la etiopatogenia, conllevaría a una alteración en la permeabilidad de la barrera intestinal. Esto permitiría el paso de lipopolisacáridos bacterianos o la translocación bacteriana. Estos componentes, al interactuar con el sistema de macrófagos, los activarían para liberar citocinas como el Factor de Necrosis Tumoral alfa, el Factor de Agregación Plaquetaria e Interleucinas como IL1, IL2 e IL6. Estas citocinas inducirían una respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), resultando en hemorragia y necrosis a nivel intestinal.<sup>4,9,10,11,12</sup> Se ha planteado la hipótesis de que la presencia de hipoxia, debida a la disminución del flujo sanguíneo en tejidos como el intestino, y especialmente durante el proceso de reperfusión, resulta en la liberación de metabolitos derivados del oxígeno, como el peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo. Estos metabolitos no solo causan necrosis a nivel celular, sino que también pueden afectar a tejidos a distancia.<sup>10,11</sup> Desde este enfoque, es esencial tener en cuenta los conceptos actuales sobre inmunomodulación al utilizar antibióticos que no tengan efectos líticos liberadores de lipopolisacáridos bacterianos. Estos últimos, lógicamente, podrían agravar el proceso inflamatorio sistémico<sup>15</sup>. Otro aspecto al que se le está dando menos importancia es el uso de anticuerpos específicos para

citocinas. Hasta mi última actualización en enero de 2022, no tengo información específica sobre el estudio mencionado de Exley y colaboradores con anticuerpos monoclonales de tipo murino anti Factor de Necrosis Tumoral alfa (FNT alfa) en pacientes con shock séptico. Sin embargo, los resultados mencionados sugieren que se logró una elevación sostenida de la presión arterial media en este contexto.<sup>7</sup>

En cuanto al uso de inhibidores para las interleuquinas IL1, IL2 e IL6 a nivel experimental, es conocido que estas interleuquinas desempeñan un papel clave en la respuesta inflamatoria y la regulación del sistema inmunológico. La inhibición de estas interleuquinas se ha explorado en diversas condiciones inflamatorias para modular la respuesta inmunitaria.

Es crucial destacar que los detalles sobre estudios clínicos y experimentales pueden evolucionar rápidamente, por lo que se aconseja consultar las fuentes más recientes o investigar estudios específicos para obtener la información más actualizada sobre los avances en este campo de investigación. Estos inhibidores tienen la capacidad de unirse y desactivar las citoquinas in vivo, lo que posibilita la supresión de la respuesta inflamatoria. En relación con la generación de radicales libres derivados del oxígeno, múltiples investigaciones respaldan la eficacia preventiva de la necrosis tisular mediante el uso de inhibidores de la xantino-oxidasa, como el alopurinol.<sup>8</sup>

En los casos de pacientes con enterocolitis necrotizante prematuros estos constituyen el 90% de la población, la fisiopatología se puede deber a:

**a) Inmadurez del sistema defensivo local**

Dado que la enterocolitis necrosante (NEC) afecta casi exclusivamente a neonatos prematuros, se ha sugerido que una barrera inmunológica intestinal inmadura también participa en la patogenia de la enfermedad<sup>35</sup>. Estos pacientes presentan niveles más bajos de linfocitos B y de inmunoglobulina A (IgA), que contribuyen a la defensa local al evitar la adhesión de agentes infecciosos a la superficie del epitelio. Por otro lado, la leche materna ejerce un efecto protector debido al aporte de inmunoglobulinas, especialmente de IgA, macrófagos, linfocitos B y T, factores del complemento, lactoferrina y

factor de crecimiento epidérmico (EGF). En este sentido, los niños que reciben alimentación artificial presentan una incidencia de NEC seis veces superior a la de los recién nacidos alimentados con leche materna <sup>25</sup>.

#### **b) Alimentación enteral**

La enterocolitis necrosante (NEC) es menos frecuente en recién nacidos que reciben exclusivamente lactancia materna<sup>24</sup>. El efecto protector de la leche materna fue confirmado por Barlow y colaboradores en un modelo animal de NEC<sup>25</sup>. En seres humanos, la leche materna desempeña un papel fundamental en la inmunización pasiva del intestino neonatal, fomentando el crecimiento de bifidobacterias en la flora intestinal<sup>26</sup>. Se ha mencionado anteriormente que este efecto beneficioso se debe al aporte de inmunoglobulinas, especialmente la IgA, así como a células del sistema inmunitario como macrófagos, linfocitos T y B, factores del crecimiento y lactoferrina. Es importante destacar que los componentes beneficiosos de la leche humana se ven adversamente afectados por la congelación y la pasteurización <sup>27</sup>.

El momento en que se inicia la nutrición enteral y el tipo de fórmula utilizada pueden tener un impacto en la aparición de la enfermedad. La administración temprana de fórmulas hiperosmolares puede causar daño directo a la mucosa gastrointestinal<sup>28</sup>. La alimentación enteral también puede dar lugar a un aumento del factor activador de las plaquetas (PAF), un importante mediador inflamatorio que podría desencadenar el inicio de las lesiones. Se ha propuesto que el aumento de la nutrición enteral en recién nacidos sea inferior a 25 ml/kg/día <sup>29</sup>.

#### **c) Mediadores vasos activos**

La lesión de la mucosa intestinal y la infección bacteriana desencadenan una cascada inflamatoria en la que participan diversos mediadores vasoactivos que pueden contribuir a la progresión de la lesión. Entre estas circunstancias,

se destacan el factor activador de las plaquetas (PAF) y el factor de necrosis tumoral (TNF), cuyos niveles se encuentran elevados en recién nacidos prematuros con enterocolitis necrosante (NEC). El PAF es un fosfolípido endógeno, un mediador de la inflamación sintetizado y secretado por diversas células, como las endoteliales, plaquetas, monocitos, macrófagos, leucocitos, eosinófilos y basófilos. Algunas bacterias, como la E. coli, también pueden producirlo. El PAF tiene la capacidad de activar los neutrófilos, inducir la liberación de radicales libres de oxígeno y enzimas de los lisosomas, además de provocar la agregación plaquetaria.

La acetil-hidrolasa es una enzima que actúa como antagonista del factor activador de las plaquetas (PAF), limitando su vida media. Estudios experimentales han evidenciado que la administración de este antagonista tiene el potencial de prevenir la aparición de la enterocolitis necrosante (NEC), respaldando así el papel de este mediador en la patogénesis de la enfermedad. La elevación de los niveles de este antagonista en la leche materna, en comparación con la leche artificial, podría ser otra razón que explique el efecto protector de la lactancia materna. Además, la administración del factor de necrosis tumoral (TNF) también puede inducir un estado de shock y necrosis en la mucosa gastrointestinal. Experimentos en modelos han demostrado que este efecto se debe a la liberación de PAF en el tejido intestinal.

## **2.3. Bases conceptuales**

### **2.3.1. Manifestaciones clínicas de NEC**

La enterocolitis necrosante (NEC) puede manifestarse de diversas maneras clínicas. Aunque los métodos convencionales para establecer el diagnóstico de NEC no han experimentado cambios significativos en las últimas décadas, los recién nacidos prematuros y de bajo peso, que tienen un mayor riesgo de desarrollar NEC, son monitoreados de manera rigurosa para detectar la enfermedad en sus etapas iniciales.

### **2.3.2. Presentación de la enfermedad de NEC**

La distensión abdominal y la presencia de sangre en las heces son dos de las manifestaciones más frecuentes de la enterocolitis necrosante (NEC), y se han observado en más del 80% de los casos. Además, es común observar hipoglucemia, apneas recurrentes, bradicardia y, finalmente, el desarrollo de shock.<sup>34</sup>

Durante el examen físico, es posible identificar distensión abdominal y sensibilidad al tacto, con la posibilidad de palpar una asa intestinal fija. En fases avanzadas de la enterocolitis necrosante (NEC), se pueden observar crepitación y edema en la pared abdominal<sup>17</sup>.

La clasificación de Bell, que evalúa los signos y síntomas, así como el riesgo específico de cada niño para desarrollar enterocolitis necrosante (NEC), es comúnmente utilizada en los protocolos clínicos. Sin embargo, en la actualidad se ha cuestionado su utilidad debido a su baja especificidad y a la subjetividad de algunos de los criterios que utiliza. Como respuesta a estas inquietudes.

### **2.3.3. Estadios de NEC**

#### **Estadio I (Sospecha diagnóstica)**

Uno o varios elementos generadores de estrés perinatal. Síntomas sistémicos: Variabilidad en la temperatura corporal, letargo, episodios de apnea y bradicardia. Síntomas gastrointestinales: Resistencia al consumo de alimentos, episodios de vómito, leve distensión abdominal y presencia de sangre en las heces. Exámenes de radiografía abdominal que revelen expansiones en las asas intestinales.

#### **Estadio II (Diagnóstico Confirmado)**

Uno o varios elementos de riesgo para la enterocolitis necrosante (NEC). La presencia continua de los síntomas mencionados anteriormente, junto con la detección constante de sangre oculta en las heces o evidencia evidente de hemorragia digestiva, puede ser indicativa de enterocolitis necrosante (NEC).

Las radiografías abdominales que revelan una distensión intestinal evidente con edema de la pared, la presencia de asas fijas, neumatosis intestinal y/o aire en el sistema portal son hallazgos que respaldan el diagnóstico.

### **Estadio III (Enfermedad avanzada)**

Uno a más de los factores de riesgo de NEC

Cualquiera de los signos o síntomas mencionados previamente, junto con un empeoramiento de los signos vitales, shock séptico y/o hemorragia digestiva severa.

Radiografía de abdomen: Neumoperitoneo

Clasificación en estadios de NEC de acuerdo con los criterios propuestos por Bell.

#### **2.3.4. Estadios clínicos de NEC**

ESTADIO CLINICO	CLINICA SISTEMICA	CLINICA DIGESTIVA	SIGNOS RADIOLOGICOS	TRATAMIENTO
I-A Sospecha De NEC	Distermia Apnea  Bradicardia Letargia	Retención gástrica Distensión abdominal leve Vómitos Sangre oculta en Heces	Normal o distensión de asas (íleo moderado)	Dieta absoluta Aspiración gástrica continua ATB 3 días (pte.cultivo)
I-B Sospecha De NEC	Igual a I-A	Igual a I-A más Rectorragía	Igual a I-A	Igual a I-A
II-A NEC establecido Forma menos Grave	Igual a I-A	Igual a I-A Ausencia de ruidos Intestinales  Dolor abdominal	Distensión de asas Íleo  Neumatosis intestinal	Dieta absoluta Aspiración gástrica continua Antibiotic oterapia 7-10 días
II-B-NEC esta blecido Forma grave	Igual I-A mas Acidosis mode rada Trobopenia moderada	Igual a II-A Dolor abdominal Eritema de pared Masa en FID	Igual a II-A Neumatosis portal Ascitis	Igual a II A Tamponar la acidosis Antibioticoterapia 14 días Drenaje peritoneal
III-A NEC avanzado	Igual II-B Shock	Igual a II B Peritonitis	Igual a II B Ascitis Franca	Igual a II B Liquido E.V .al menos



Forma muy grave sin perforación	Apneas graves Acidosis grave Neutropenia CID	Generalizada Dolor abdominal Distensión Abdominal		200ml/Kg Inotrópicos/Ventilación asistida ATB 14 días Cirugía/drenaje peritoneal
III-B NEC avanzado forma muy grave con perforación	Igual III-A	Igual a III A	Igual a II B Neumo periton O	Igual a III-A

Fuente: Chiud C J, Mc Ardle AH., Modificación de la clasificación de estadios de NECdeBell según Kliegman y Walsk.

### 2.3.5. Tratamiento médico e indicaciones de cirugía

A pesar de los avances ocurridos en los últimos años, en la actualidad no existe un tratamiento médico específico para la enterocolitis necrosante (NEC). Cuando no se detecta necrosis ni perforación intestinal, el enfoque terapéutico es conservador, centrado principalmente en el reposo digestivo total, la nutrición parenteral completa y la administración de antibióticos. Se requiere un monitoreo clínico, radiológico y análisis diario para identificar de manera temprana a los recién nacidos que puedan tener una evolución desfavorable y necesitar intervención quirúrgica. Las situaciones que generalmente requieren intervención quirúrgica en casos de enterocolitis necrosante (NEC) incluyen la presencia de neumoperitoneo y aire en el sistema portal. Además, un deterioro clínico significativo, junto con anomalías en los análisis como una acidosis metabólica persistente, trombocitopenia o la presencia de líquido peritoneal infectado, son indicaciones importantes para considerar la cirugía.

La intervención quirúrgica para tratar la enterocolitis necrosante (NEC) generalmente implica la extirpación de los segmentos intestinales que han sufrido necrosis y perforación. El objetivo es conservar la mayor longitud intestinal posible. En algunos casos específicos, se puede realizar una anastomosis primaria, pero en la mayoría de los pacientes, se requiere la creación de ostomías terminales o derivativas. En situaciones donde la afectación intestinal es extensa, se podría considerar una yeyunostomía proximal seguida de una revisión posterior. La intervención quirúrgica para tratar la enterocolitis necrosante (NEC) puede estar asociada con una morbilidad considerable, alcanzando hasta un 40% en algunas

series.<sup>36,38</sup> Dentro de las complicaciones intraabdominales más comunes se incluyen las dehiscencias anastomóticas, los abscesos intraabdominales y las fístulas<sup>8,39,40</sup>.

Este enfoque también se sugiere en niños con muy bajo peso que experimentan inestabilidad hemodinámica y tienen un elevado riesgo quirúrgico. Autores como Moss y colaboradores respaldan la utilización del drenaje peritoneal, técnica que fue inicialmente descrita por Ein en 1977. Estos autores sugieren que el drenaje peritoneal debería considerarse como la opción primaria en pacientes con un peso inferior a 1500 gramos, y no encuentran diferencias significativas en los resultados finales al compararlo con la laparotomía.

La estenosis intestinal es una de las secuelas más comunes de la enterocolitis necrosante (NEC), especialmente tras un enfoque de tratamiento conservador. El área más frecuentemente comprometida es el ángulo esplénico del colon (70%), seguido por el íleon terminal (15%)<sup>42</sup>. Indudablemente, la consecuencia más grave es el síndrome de intestino corto, que se desarrolla como resultado de extensas resecciones intestinales y se manifiesta en aproximadamente el 10% de los casos. Estos pacientes dependerán de la nutrición parenteral total durante un período prolongado, lo que, a su vez, puede dar lugar a nuevas complicaciones y secuelas, como sepsis relacionada con el catéter, retraso en el crecimiento, colestasis, cirrosis e insuficiencia hepática. En algunos casos, puede ser necesario llevar a cabo un trasplante intestinal, y en situaciones extremas, se ha llegado a realizar un doble trasplante hepático e intestinal.<sup>23</sup>.

### **2.3.6. Prevención**

La prevención de la enterocolitis necrotizante requiere abordar todos los elementos involucrados en el desarrollo de la enfermedad. Estas estrategias preventivas se enfocan principalmente en disminuir la colonización y el exceso de bacterias, al mismo tiempo que fortalecen las defensas del sistema inmunológico del recién nacido<sup>56</sup>.

### **2.3.7. Profilaxis antibiótica**

La aplicación de antibióticos de amplio espectro, especialmente aminoglucósidos, por vía enteral, los cuales no son absorbidos en el tracto digestivo, ha sido comúnmente empleada con el propósito de prevenir la enterocolitis necrosante al reducir la colonización bacteriana.

### **Inmunoglobulinas**

Debido a los niveles reducidos de inmunoglobulinas, especialmente IgA, en los recién nacidos, algunos estudios clínicos y experimentales han indicado que la administración de estas inmunoglobulinas podría ofrecer un beneficio protector en neonatos con factores de riesgo que no reciben lactancia materna <sup>45</sup>. No obstante, investigaciones más recientes no han respaldado el efecto beneficioso de las inmunoglobulinas, ya sea administradas por vía oral o intravenosa <sup>19</sup>.

### **Glucocorticoides**

El empleo de corticoides en el tratamiento prenatal, destinado a impulsar la maduración pulmonar, ha evidenciado una disminución en la incidencia de la enterocolitis necrosante (ECN). En este contexto, se ha propuesto que los corticoides aceleran el proceso de maduración de las células de la mucosa intestinal mediante la glicosilación de la superficie del epitelio, lo que complicaría la adherencia bacteriana<sup>45</sup>. Sin embargo, la aplicación de corticoides después del nacimiento en bebés con riesgo de desarrollar NEC no ha revelado ningún impacto beneficioso. Tres análisis exhaustivos de datos han ratificado que la aplicación de esteroides después del nacimiento no disminuye la incidencia de la enterocolitis necrosante e, incluso, está vinculada a un aumento en las perforaciones intestinales. Por lo tanto, en la actualidad, no se considera una medida de prevención recomendada <sup>45</sup>.

### **2.3.8. Control de la respuesta inflamatoria**

Investigaciones experimentales han demostrado la capacidad protectora de diversos antagonistas del receptor del factor activador de plaquetas (PAF), como el WEB 2086 y el SRI 63441<sup>19</sup>. Aunque no existen estudios clínicos publicados sobre la aplicación de estos antagonistas en recién nacidos con enterocolitis necrosante (NEC)<sup>44</sup>.

Otra táctica para modular la respuesta inflamatoria consiste en reducir la producción del radical superóxido mediante el bloqueo de la acción de la enzima xantina-oxidasa. La aplicación experimental de alopurinol, un inhibidor de esta enzima, ha evidenciado una disminución de las lesiones isquémicas intestinales en un modelo de enterocolitis necrosante. (NEC).

## **2.4. Bases filosóficas**

El enfoque de nuestra investigación se sustenta principalmente en corrientes filosóficas como el empirismo, el positivismo y el paradigma constructivista.

En particular, adoptamos el empirismo como base, el cual, desde una perspectiva ontológica, examina la realidad en términos fenoménicos causales. Este enfoque implica la búsqueda de las causas que subyacen a todos los problemas. Desde el punto de vista gnoseológico, se postula que la verdad está intrínseca en el objeto de investigación, lo que implica la necesidad de desarrollar una metodología que comienza con la observación del problema en términos de sus variables e indicadores. Posteriormente, se formula una hipótesis basada en las frecuencias observadas en el comportamiento de las variables, la cual debe ser verificada a través de la experimentación. Si se obtienen pruebas y evidencias suficientes a favor de la hipótesis, esta evoluciona hacia una teoría científica. Si dicha teoría se confirma de manera consistente en todos los casos, el investigador ha descubierto una ley de la naturaleza o de la sociedad, según corresponda. En todo el proceso de investigación, se espera que el científico mantenga una neutralidad axiológica para lograr la

objetividad en la construcción del conocimiento.

Además, este estudio se fundamenta en el Positivismo, un paradigma que sostiene que la realidad es absoluta y completamente aprehensible por el ser humano, y está regida por leyes y mecanismos naturales. Desde este enfoque, es posible determinar los diversos factores que rodean un fenómeno de estudio, ya sean causales, mediadores o moderadores.

En la relación entre el conocedor y lo que puede ser conocido, el positivismo implica un dualismo y objetivismo, donde el investigador y el objeto de estudio son completamente independientes. Este enfoque subraya la importancia de controlar cualquier posible interacción entre el investigador y el objeto de estudio, ya que dicha interacción podría introducir sesgos en el proceso investigativo. Los hallazgos derivados de este paradigma se consideran como realidades objetivas y se busca su generalización a toda la población.

La metodología de generación del conocimiento se basa en procedimientos de análisis de datos similares a los establecidos en las ciencias exactas. En este paradigma, se argumenta que los métodos utilizados en disciplinas como medicina, física o biología deben aplicarse directamente en la investigación en las ciencias sociales. Además, se sostiene que este enfoque representa el estándar necesario para que una disciplina sea reconocida como una auténtica ciencia.

En este enfoque cuantitativo, el conocimiento científico se caracteriza por ser racional, objetivo y fundamentarse en lo observable, manipulable y verificable. La adopción del positivismo implica aceptar conocimientos que se deriven de la experiencia del sujeto, siguiendo los principios del empirismo.

Bajo la perspectiva positivista, se consideran significativas las respuestas a una pregunta de investigación solo si es posible realizar mediciones sobre el fenómeno de estudio. En este contexto, se otorga validez a los métodos experimentales, donde se manipulan de manera intencionada las variables independientes en varios niveles de experimentación

## **2.5. Bases epistemológicas**

En efecto, la presente investigación se fundamenta en el paradigma constructivista, una corriente pedagógica que aboga por proporcionar al alumno herramientas que le permitan desarrollar sus propios métodos para resolver situaciones problemáticas. Esto implica que las ideas del estudiante se modifiquen y continúe aprendiendo. En el constructivismo, el estudiante construye activamente nuevas ideas o conceptos basados en conocimientos actuales y pasados. En otras palabras, el aprendizaje se lleva a cabo construyendo nuestros propios conocimientos desde nuestras experiencias individuales. Este paradigma propone un enfoque donde el proceso de enseñanza se concibe y se implementa como un proceso dinámico, participativo e interactivo del sujeto, de manera que el conocimiento sea una verdadera construcción operada por la persona que aprende (el sujeto cognoscente). En la pedagogía constructivista, el concepto se aplica como un enfoque didáctico en la enseñanza orientada a la acción.

## **2.6. Bases antropológicas**

Estos elementos son fundamentales para que los actores sociales construyan significados en torno a acciones e interacciones sociales específicas y temporales. Además, la cultura sostiene las formas sociales existentes, las instituciones y sus modelos operativos.

Desde una perspectiva antropológica, es fundamental evitar realizar juicios de valor al encontrarnos con culturas diferentes. En cambio, debemos esforzarnos por comprender esas culturas según sus propios valores y conocimientos, a través de los cuales expresan su propia visión del mundo. Este enfoque se conoce como relativismo cultural, y nos permite entender las actividades y los significados atribuidos a ellas de manera lógica, sin imponer jerarquías o emitir juicios de valor.

## CAPÍTULO III. SISTEMA DE HIPÓTESIS

### 3.1. Formulación de hipótesis

#### 3.1.1. Hipótesis general

- Si se aplica eritropoyetina en forma subcutánea profilácticamente, siete días antes, en ratas en quienes se realiza ligadura alternada de los vasos sanguíneos del intestino se observará un efecto protector contra la necrosis de tejido intestinal producida por la isquemia.

#### 3.1.2. Hipótesis específicas

HO: No hay diferencias entre la necrosis del intestino de las ratas del grupo testigo y aquellas que reciben Eritropoyetina en forma preventiva

HA: Si existen diferencias entre la necrosis del intestino de las ratas del grupo testigo yaquellas que reciben Eritropoyetina en forma profiláctica.

### 3.2. Variables

#### 3.2.1. Variable Independiente

Uso de la eritropoyetina en el tratamiento preventivo de la enterocolitis necrotizante en un modelo experimental.

#### 3.2.2. Variable Dependiente

Necrosis en la pared intestinal evaluada mediante la Escala de Chiud.

#### 3.2.1. Variable Interviniente

Ligadura de las arterias, venas y vasos linfáticos mesentéricos, por un tiempo de 60 min.

### 3.3. Operacionalización de variables

Medición del grado de necrosis a través de la Escala de Chiud, mediante la evaluación de láminas por microscopía.

- **Al grupo A:** 500 UI/ kilo día de Hormona Eritropoyetina aplicada en forma subcutánea (0,5 ml) durante 7 días consecutivos, posterior a ello mediante laparotomía exploratoria, Ligadura de vasos sanguíneos y linfáticos mesentéricos por 60 minutos y después retiro del tejido, mediante re laparotomía exploratoria, posteriormente el espécimen es llevado a anatomía patológica, preparación de lámina y lectura de la misma según grado de necrosis por la escala de Chiud: Sacrificio del animal
- **Al grupo B:** (Grupo control): Con aplicación de suero fisiológico 0,5 ml. en las mismas condiciones que para el grupo experimental (Grupo A), por 7 días, más ligadura, retiro de tejido y evaluación con la misma escala.

### 3.4. Definición de términos operacionales

#### 3.4.1. La eritropoyetina

El término "RT-PCR" se refiere a la Reacción en Cadena de la Polimerasa con Transcriptasa Inversa. Es una técnica molecular utilizada para amplificar y analizar el ARN (ácido ribonucleico) en una muestra biológica. La RT-PCR combina la transcripción inversa (que convierte el ARN en ADN complementario, cADN) con la PCR (amplificación en cadena de la polimerasa), permitiendo así la detección y cuantificación de ARN específico.

En el contexto del estudio que mencionas, se utilizaron técnicas de RT-PCR para investigar la presencia de Eritropoyetina (Epo) y Epo-Recombinante en diferentes órganos de fetos en distintas etapas gestacionales.<sup>48</sup>.

Es interesante observar que la placenta también es capaz de sintetizar eritropoyetina (Epo) durante la vida fetal, según la evidencia encontrada. La presencia de Epo y de receptores de Epo (Epo-R) en varios tejidos durante el desarrollo embrionario sugiere que esta hormona puede desempeñar un papel



significativo en la regulación del crecimiento y la diferenciación celular en colaboración con otros factores de crecimiento. La interacción compleja de la Epo con diversos tejidos durante el desarrollo fetal destaca la importancia de esta hormona en procesos más allá de la eritropoyesis<sup>50</sup>.

La leche materna, además de proporcionar nutrientes esenciales, contiene una variedad de hormonas y péptidos, como el factor de crecimiento similar a la insulina (insulin-like growth factor), el factor de crecimiento epidérmico (epidermal growth factor), el factor de crecimiento transformador-alfa (transforming growth factor-alpha), y diversas interleuquinas. Dada la menor actividad proteolítica y la mayor permeabilidad a las proteínas en el tubo digestivo neonatal, muchos de estos péptidos y hormonas se absorben intactos, desempeñando así un papel crucial en el desarrollo del recién nacido <sup>51</sup>. Se ha confirmado que la leche materna contiene cantidades significativas de eritropoyetina (Epo), aunque en concentraciones ligeramente inferiores a las del suero<sup>9</sup>. La eritropoyetina (Epo) presente en la leche materna se absorbe en distintos segmentos del tracto digestivo. Estas observaciones sugieren que la Epo contenida en la leche materna desempeña un papel en el desarrollo y la función del intestino neonatal. <sup>12,52</sup>

### **3.4.2. Suero fisiológico**

El suero fisiológico, también conocido como cloruro de Sodio es una sustancia cristalóide estándar con una concentración al 0,9% (p/v) en agua, es levemente hipertónica respecto al líquido extracelular y tiene un pH ácido, es una solución salina esterilizada utilizada para hacer perfusiones en la vena en caso de disminución de líquidos o sal en el organismo, en otras palabras, es solo agua con sal estéril.<sup>62</sup>

### **3.4.3. Clasificación de Chiud**

Para el estudio de microscopia se utilizó el estudio descrito por Chiud,

el cual se considera que es un parámetro de puntuación adecuada y buen indicador de lesión isquémica.

#### Clasificación de Chiud:

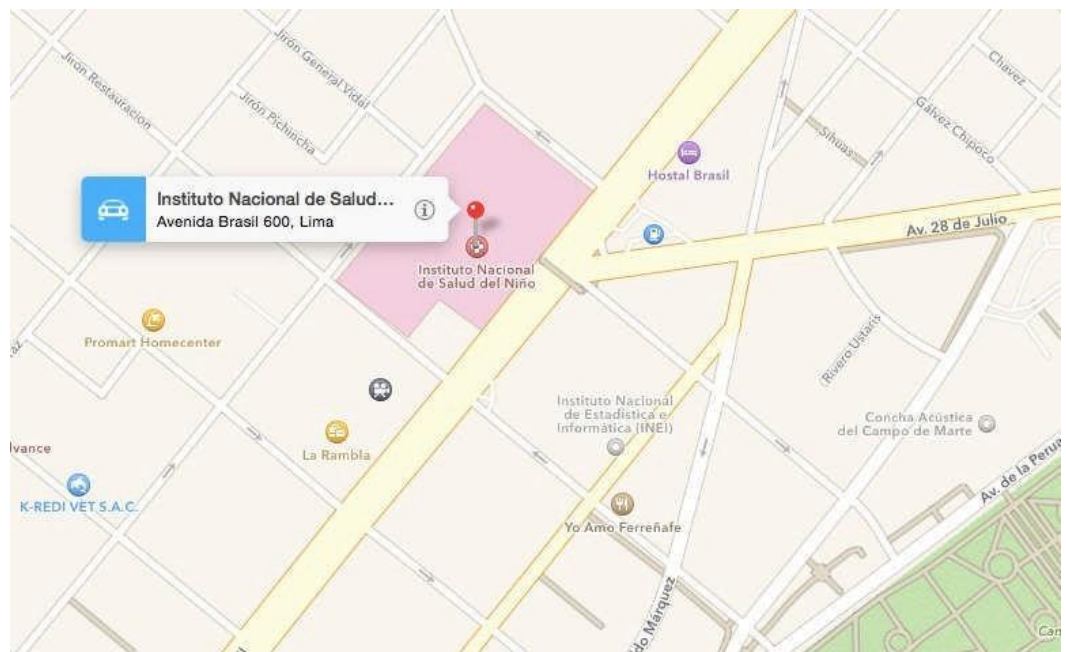
GRADO	DESCRIPCIÓN
0	Vellosidades de características normales
1	Espacio subepitelial de Gruenhagen; congestión capilar
2	Separación moderada entre el epitelio y la lámina propia.
3	Separación masiva del epitelio que se extiende hacia la base de la vellosidad; algunas vellosidades aparecen denudadas.
4	Denudación de múltiples vellosidades con exposición de la lámina propia y de los capilares dilatados.
5	Digestión y desintegración de la lámina propia; hemorragia y ulceración.

Fuente: Chiud C J, Mc Ardle AH.

## CAPÍTULO IV. MARCO METODOLÓGICO

### 4.1. Ámbito

El estudio se realizó en la unidad de cirugía experimental del Instituto Nacional de Salud del Niño, criadas las ratas Holzen, se evaluó su nacimiento y se utilizaron para el estudio ratas menores de 15 días de vida. Extraída la muestra, se llevaron estas a anatomíapatológica para la preparación de láminas y la lectura correspondiente.



### 4.2. Nivel y tipo de estudio

El presente es una investigación experimental, como lo caracteriza Kerlinger (2006), también pertenece al tipo prospectivo y clínico<sup>50,41</sup>

### 4.3. Población y muestra

#### 4.3.1. Descripción de la población

El estudio incluyó 84 ratas albinas de la raza Holtzen menores de 15 días de edad. Fueron elegidos al azar, hembras o macho. Estos animales no fueron sometidos a experimentos anteriores, ni recibieron medicación alguna. El promedio de peso fue de 15 a 20 gramos.

#### 4.3.2. Muestra y método de muestreo

En concordancia con el tipo de investigación experimental en animales, los objetivos y el alcance de las contribuciones que se pretende hacer con el presente estudio, se determinó el tamaño de la muestra mediante la aplicación de la siguiente fórmula para comparación de dos proporciones:

$$n = \frac{[Z\alpha\sqrt{2p(1-p)} + Z\beta\sqrt{p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)}]^2}{(p_1 - p_2)^2}$$

n = Sujetos

necesarios para

casos y controles

$Z\alpha = 1.96$ , (riesgo deseado. (5%))

$Z\beta = 0.84$ , (potencia de prueba de 80%)

$p_1 = 50\%$  (Proporción de “animales con necrosis severa en el grupo control”)

$p_2 = 21\%$  (Proporción de “animales con necrosis severa en el grupo con eritropoyetina”)

Media de las proporciones  $p_1$   $p_2 = 35,5\%$

Cálculos:

$$n = \frac{\sqrt{[1.96 * 2(0.33)(1 - 0.355) + 0.80 * 0.50(1 - 0.50) + 0.21(1 - 0.21)]^2}}{(0.50 - 0.21)^2}$$

$$n = 42$$

Resultando un tamaño muestral de 42 en cada grupo experimental, haciendo un total de 84 animales de experimentación.

#### 4.3.3. Criterios de inclusión y exclusión

**Grupo A:** de 42 animales a quienes se les aplico diariamente 500 UI/kilo de eritropoyetina recombinante humana equivalente a 0,5 ml de solución por vía subcutánea aplicada diariamente por siete días antes de la ligadura de la arteria, vena y vaso linfático.

**Grupo B:** Compuesto de 42 animales o grupo testigo con ligadura, con la aplicación de suero fisiológico 0,5 ml. Aplicados a la misma hora y en las mismas condiciones que la aplicada para el grupo en estudio, cantidad determinada por aplicación de la fórmula para el estudio.

#### 4.4. Diseño de investigación

Se utilizó un diseño de investigación experimental en ratas de no más de quince días de nacidas de la raza Sprague, las cuales fueron sometidas a un proceso de aleatorización simple. A cada rata se le asignó un número; siendo los números pares destinados al grupo control y los impares al grupo experimental.

#### DISEÑO DE UN GRUPO CONTROL CONPOST TEST

	INTERVENCIÓN	OBSERVACIÓN
R GE	X1	O1
R GC	X2	O2

R = randomización o aleatorización

GE : Grupo experimental G.C.: Grupo control

O1 : Observación en el grupo experimental  
O2 : Observación en el grupo control

G <sub>1</sub>	E	X <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>
G <sub>2</sub>	E	X <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>

#### 4.5. Técnicas e instrumentos

Estudio experimental de enfoque cuantitativo.

##### 4.5.1. Técnicas

Cuenta con evaluación en muestras de expedientes histológicas

##### 4.5.2. Instrumentos

Se tomó en cuenta el parámetro la escala de Chiud

##### 4.5.2.1. Validación de los instrumentos para la recolección de datos

La escala para medir el grado de necrosis en fase temprana y tardía por Chiud y colaboradores<sup>33,36,22</sup>, estos estudios fueron publicados en las revistas<sup>4,28,83</sup>. Esta escala es usada a nivel internacional en muchos trabajos, sobre isquemia intestinal, siendo un estudio preciso y claro que tiene coherencia con el hallazgo histológico<sup>10</sup>.

#### 4.6. Técnica para el procedimiento y análisis de datos

Las 84 ratas incluidas en el estudio recibieron el siguiente procedimiento: Se utilizaron ratas recién nacidas no más de 15 días de vida.

Al séptimo día de la aplicación de la ERITROPOYETINA para el grupo A: y la de SUERO FISIOLÓGICO para el grupo B ambos grupos de ratas fueron anestesiados utilizando Ketamina 10mg por kilo por dosis y atropina 0.25 mg por kilo por vía subcutánea, para la sedación respectiva, administrada por un médico veterinario, garantizando de esta manera el no sufrimiento de las Ratas y evitar episodios de hipoxia.

En las mismas condiciones, se ligó intercaladamente, las venas, arterias y linfáticos del mesenterio intestinal de las ratas de ambos grupos, para luego de 60 min reseca el segmento intestinal ligado y colocar en frascos con formol al 10%, y posteriormente realizar el estudio anatomía patológica correspondiente.

Se tomó en consideración:

Para el

GRUPO A:

42 ratas. Para

el GRUPO B:

42 ratas.

##### **Procedimiento Detallado**

Los animales fueron mantenidos vivos durante siete días, al cabo de los cuales fueron sometidos al procedimiento de experimentación, fueron divididos en dos grupos de 42 animales cada uno:

**Grupo A:** Compuesto por 42 animales a quienes se le aplicó 500 UI/Kilo día de Hormona Eritropoyetina diluido en 0.5 ml. de solución 7 días antes de la intervención quirúrgica, por vía subcutánea aplicado a las 8:00 am para en el séptimo día realizar la intervención descrita.

**Grupo B:** Compuesto de 42 animales o grupo testigo con ligadura, con la aplicación de suero fisiológico 0,5 ml. Aplicados a la misma hora y en las mismas condiciones que la aplicada para el grupo en estudio.

Luego de los 7 días, de aplicación (Grupo A, Grupo B) A los animales previamente anestesiados se colocó a cada rata en decúbito supino, y se fijó las cuatro extremidades luego se les rasuró la piel del abdomen y después de asepticar con Iodo povidona al 10%, se realizó una incisión de 3 cm. de longitud a lo largo de la línea media. Abierta la pared abdominal se colocó los intestinos sobre una compresa humedecida con solución salina al 9 por mil. Se realizó ligadura intercalada de la vena arteria y linfático de las arterias rectas del mesenterio, lo más proximal posible hecha con seda 7 cero. La oclusión vascular fue confirmada por la pérdida de pulsaciones en el mesenterio de las ratas, luego de la ligadura se procedió a cerrar la cavidad abdominal con vicryl 4/0 en un solo plano para conservar la temperatura adecuada de las ratas y 60 min después del inicio de la ligadura se realizó un nuevo re la parotomía para la obtención de las muestras, posteriormente los animales fueron sacrificados mediante la aplicación de una sobredosis de Ketamina.

### **Recolección de la muestra**

Al cabo de 60 minutos se reseco el segmento intestinal en estudio y fueron fijadas en formol al 10%, etiquetado y enviado para estudio anatomopatológico, siendo coloreadas con hematoxilina eosina.

Las muestras estudiadas fueron analizadas y clasificadas utilizando la escala de Chiud y colaboradores (4)

**Grado 0:** Mucosa sin alteraciones

**Grado 1:** Vellosidades bien formadas, sin lisis celular o proceso inflamatorio. Sin embargo, con formación de espacios sub



epiteliales de Grunhagen.

- Grado 2:** Presencia de lisis celular con formación de espacio subepiteliales e incremento del espacio entre las vellosidades.
- Grado 3:** Destrucción de la porción libre de las vellosidades, presencia de dilatación de capilares
- Grado 4:** Destrucción estructural de las vellosidades, y gran presencia de células inflamatorias y material necrótico. Con sangrado y ulceración de las glándulas basales
- Grado 5:** Destrucción de la túnica mucosa enteral, con pérdida de la estructura no glandular, pero solo con depósito de material amorfo sobre la submucosa.

Se consideró que el animal presenta enterocolitis, cuando se asocien dos criterios.

### **Estudio microscópico**

En el momento del sacrificio, se tomaron muestras de íleon distal y colon derecho de cada animal. Estas muestras fueron abiertas longitudinalmente, lavadas en suero fisiológico y luego fijadas en formol al 10% durante 24 horas. Posteriormente, todas las muestras fueron incluidas en parafina después de un proceso de deshidratación con concentraciones crecientes de alcohol. Se realizaron varias secciones sucesivas de 4 µm de grosor de cada muestra, las cuales serán teñidas con hematoxilina y eosina.

El análisis de microscopía óptica se llevó a cabo utilizando el sistema de lesión microscópica descrito por Chiud. Estudios anteriores que emplearon este mismo modelo animal han demostrado que este sistema de puntuación es un indicador fiable de lesión isquémica. Las láminas fueron evaluadas por una patóloga que desconocía el grupo al que pertenecía cada animal.

### **Plan de tabulación y análisis de datos**

La selección de este modelo experimental se fundamentó también en otra razón crucial: la mayor susceptibilidad del intestino de las ratas recién nacidas a

la isquemia. Se ha observado que la mucosa intestinal de ratas con 15 días de vida, en la etapa de destete, es más propensa a los efectos de la isquemia-reperusión que el intestino de ratas adultas.

Es crucial resaltar que la evaluación de las láminas fue realizada por una patóloga que no tenía conocimiento del grupo al que pertenecía cada animal. Además, el sistema de puntuación de Chiud utilizado en el experimento proporciona una descripción cualitativa del espectro de lesiones que complementa el análisis morfométrico. Estudios previos han confirmado que este sistema de puntuación es un indicador confiable de lesión isquémica, respaldando así su aplicación en la investigación.

Se creó una ficha de recopilación de datos en la cual se registró el grado de lesión, según la lámina, de cada animal experimental, relacionándolo con los grados de necrosis I, II, III, IV, V de acuerdo a la escala de Chiud. Una vez completado el registro de los datos, se llevó a cabo una prueba Z de proporciones para evaluar cualquier diferencia en el grado de necrosis entre los dos grupos.

#### **4.7. Aspectos éticos**

En el presente trabajo se ha tenido en consideración las recomendaciones contenidas en la declaración de la Asociación Médica Mundial, sobre el uso de los animales en la investigación biomédica, adoptada en la 41 asamblea Médica Mundial efectuada en Hong Kong<sup>63</sup> y las Guías para el cuidado y uso de los animales de laboratorio de los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos de América (National Institutes of Health, 1994). Cuyos principios más resaltantes y que se han practicado en el transcurso de nuestra investigación, han sido:

- 1) Brindar los cuidados adecuados de los animales según su etiología.
- 2) Evitar el dolor innecesario, sufrimiento, estrés o lesiones prolongadas.
- 3) Evitar la duplicación o repetición innecesaria de experimentos <sup>63,64</sup>

La garantía de que se han cumplido estos principios es el hecho que nuestro trabajo, se realizó en el Servicio de Cirugía Experimental del Instituto Nacional de Salud del Niño en Breña, donde el encargado del cuidado de pre, trans y post-operatorio era realizado por un veterinario.

ANEXO 2 (mapa de macro proceso de cirugía experimental).

## CAPÍTULO V. RESULTADOS

### 5.1. Análisis descriptivo

Para el análisis estadístico se tiene las siguientes características:

Es un problema de comparación (un grupo control y un grupo experimentales)

- La variable independiente (VI) es el tratamiento con Eritropoyetina. Está conformado por dos grupos de roedores seleccionados independientes (cada grupo está formado por 42 roedores): Grupo Control, Grupo Eritropoyetina (se le suministró el fármaco)
- La variable dependiente (VD) son los niveles o grados de la escala Chiud (Grado 0, 1, 2, 3, 4 y 5) y el nivel de medición es en escala ordinal. Teniendo en cuenta que el (0) las vellosidades intestinales son de características normales. Grado (1) los espacios subepiteliales de Gruenhagen, presentan congestión capilar. Grado (2) cuando hay una separación moderada entre el epitelio y la lámina propia. Grado (3) se evidencia separación masiva del epitelio que se extiende hacia la base de la vellosidad intestinal, algunas vellosidades aparecen denudadas. Grado (4) denudación de múltiples vellosidades con exposición de la lámina propia y de los capilares dilatados. Grado (5) cuando hay digestión y desintegración de la lámina propia, hemorragia y ulceración del tejido.

**Tabla 1. Frecuencias en el grado de necrosis según la escala Chiud, en cada grupo experimental.**

	Grado 0	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Grado 4	Grado 5	Total
<b>Grupo A</b>	0	6	15	11	7	3	42
<b>Grupo B</b>	7	30	5	0	0	0	42

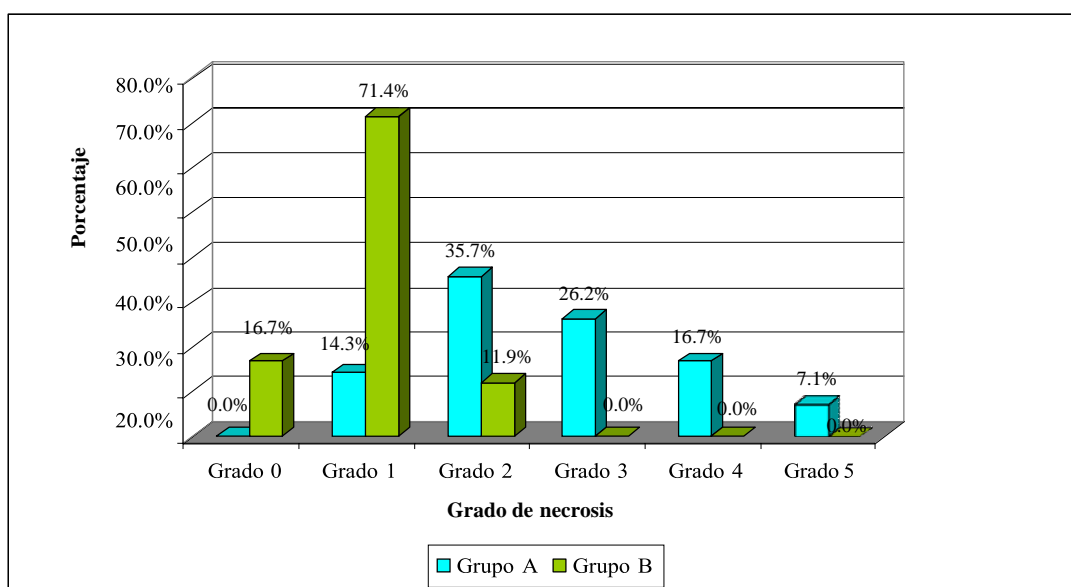
Fuente: Elaboración nuestra.

**Tabla 2. Porcentajes en Grado de Necrosis según la escala Chiud en cada grupoexperimental.**

	Grado 0	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Grado 4	Grado 5	Total %
<b>Grupo A</b>	0.0%	14.3%	35.7%	26.2%	16.7%	7.1%	100%
<b>Grupo B</b>	16.7%	71.4%	11.9%	0.0%	0.0%	0.0%	100%

Fuente: Elaboración propia.

**Figura 01**



## 5.2. Análisis inferencial y contrastación de hipótesis

### 5.2.1. Prueba de Hipótesis

#### a) Hipótesis 1

**H<sub>0</sub>:** No hay diferencias entre la necrosis del intestino (grado I+II) de las ratas del grupo testigo y aquellas que reciben Eritropoyetina en forma preventiva.

**H<sub>A</sub>:** Si hay diferencias entre la necrosis del intestino (grado I+II) de las ratas del grupo testigo y aquellas que reciben Eritropoyetina en forma preventiva.

**Tabla 3. Prueba de hipótesis Necrosis intestinal en ratas con Eritropoyetina VS Control en grado de necrosis Leve**

Grupo	N	Grado 1 y 2	Proporción	Estimación de la diferencia	95% IC	Test para diferenciade Proporciones Valor p	Test Exacto deFisher Valor p
Control	42	21	21/42 = 0,5	-0,33	(- 0,52, -0,14)	0,001	0,002
Eritropoyetina	42	35	35/42 = 0,83				

Existen diferencias significativas en el grado de necrosis en animales que recibieron Eritropoyetina vs el Control. (50% vs 83,3%, respectivamente). Los animales que recibieron eritropoyetina hicieron grados de necrosis leve (I y II), el control presento grado severo (III, IV y V)

**Tabla 4. Prueba de hipótesis Necrosis intestinal en rata con Eritropoyetina VS Control en grado de necrosis severa.**

Grupos	N	Grado 3, 4 y 5	Proporción	Estimación de la diferencia	95% IC	Test para diferencia de Proporciones Valor p	Test Exacto de Fisher Valor p
Control	42	21	21/42 = 0,5	0,33	(0,14, 0,5)	0,001	0,002
Eritropoyetina	42	7	7/42 = 0,16				

El 16% de los animales con eritropoyetina presentaron necrosis severa. El 50% animales del control hicieron necrosis severa. Existe diferencia en el porcentaje de necrosis en el grupo control vs el grupo tratado con eritropoyetina ( $p = 0,002$ ).

### 5.3. Discusión de resultados

Los resultados de este estudio demuestran que existen diferencias significativas en el grado de necrosis en animales que recibieron Eritropoyetina vs el Control. (50% vs 83,3%, respectivamente). Los animales que recibieron eritropoyetina hicieron grados de necrosis leve (I y II), congestión capilar y separación moderada entre el epitelio y la lámina propia de las vellosidades intestinales, el control presento grado severo (III, IV y V) separación masiva del epitelio, múltiples vellosidades intestinales denudadas, exposición y desintegración de la lámina propia del tejido intestinal ,hemorragia y ulceración de la misma, p: 0.001 test para diferencia de proporciones y 0.002 Test exacto de Fisher (Tabla 3 y 4)

La selección de este modelo experimental se basó en la mayor susceptibilidad del intestino de las ratas recién nacidas a la isquemia. La mucosa intestinal de estas ratas, con 15 días de vida y en la fase de destete, es más propensa a los efectos de la isquemia-reperfusión en comparación con el intestino de ratas adultas. La evaluación del grado de necrosis se realizó mediante el uso de la escala de Chiud.

La cual ha sido y es utilizada mundialmente para tales efectos<sup>10</sup> hay que destacar que los análisis fueron evaluados por una patóloga que desconocía el grupo al que pertenece cada muestra de la experimentación.

Desde el punto de vista fisiopatológico, la ligadura de las arterias en forma alternada produce lesiones de la mucosa intestinal, probablemente a un mecanismo de isquemia reperfusion, ya que las arterias que no son ligadas por fenómeno de compensación producirán un incremento del flujo sanguíneo por vasodilatación y esto generará radicales derivados del oxígeno las que ejercen un efecto lesivo de las células que constituyen la mucosa intestinal <sup>10,11</sup>

La eritropoyetina, tiene un efecto protector, puesto que esta hormona tiene una acción de prevenir la apoptosis antioxidante, angiogénica y microprotectora siendo está demostrada en investigaciones <sup>11,12</sup>

La eritropoyetina ha demostrado reducir la expresión de mediadores pro inflamatorios TNF alfa y IL-2 en la injuria renal y revertir la endotoxina sobre la superoxidismutasa renal (SOD), estas propiedades anti inflamatorias de la eritropoyetina sugiere la participación de la via NF kB, en la protección renal, aunque en nuestro modelo no se ha usado toxinas, especulamos que el efecto anti inflamatorio de la EPO, ha jugado un rol importante en la protección del intestino en el grupo experimental <sup>61</sup>

Hasta ahora, no se han publicado otros estudios nacionales que aborden el impacto de la eritropoyetina en modelos experimentales de enterocolitis necrosante (ECN). Sin embargo, varios estudios han demostrado un efecto protector de la eritropoyetina en las lesiones causadas por isquemia-reperfusión en varios órganos, incluido el intestino. Es importante señalar que la mayoría de estos estudios utilizaron ratas adultas.<sup>58,59</sup> A pesar de que estos modelos no consideran la madurez intestinal como un factor etiopatogénico, sus resultados son relevantes, ya que la isquemia-reperfusión es uno de los principales factores involucrados en la enterocolitis necrotizante<sup>59</sup>. Un estudio examinó los efectos de una única dosis intraperitoneal de eritropoyetina recombinante humana en ratas de 250 gramos sometidas a la oclusión de la arteria mesentérica durante 60 minutos. La evaluación de las lesiones intestinales, utilizando el sistema de puntuación de Chiu, indicó que la administración de eritropoyetina, tanto antes de la isquemia como al inicio de la perfusión, fue efectiva para prevenir la lesión intestinal en comparación con el grupo que desarrolló enterocolitis necrotizante <sup>40</sup>

Se realizaron investigaciones en ratas adultas que fueron sometidas a la oclusión de la arteria mesentérica superior durante 60 minutos para evaluar el impacto de tres dosis de 1000 U/kg de eritropoyetina recombinante humana administrada por vía subcutánea. Además del grado de lesión histológica, las variables consideradas incluyeron la supervivencia de los animales.<sup>37</sup> La puntuación empleada para evaluar la lesión intestinal, el índice de Park, mostró una notablemente mayor magnitud en el grupo de isquemia-reperfusión en comparación con los grupos tratados con eritropoyetina a las 6 y 12 horas. Además, mientras que la supervivencia en el grupo de isquemia-reperfusión fue inferior a las 24 horas en todos los animales, en los



grupos de tratamiento con eritropoyetina, alcanzó las 72 horas en el 80% de los animales. Es crucial mencionar que, en nuestro estudio, todos los animales fueron sacrificados inmediatamente después de extraer las muestras debido a la potencialmente elevada mortalidad al utilizar ratas neonatales en comparación con las ratas adultas de otros trabajos.

Numerosos estudios adicionales han respaldado el efecto protector de la eritropoyetina en lesiones experimentales inducidas por isquemia-reperfusión en diversos órganos, incluyendo el hígado, riñón, corazón y retina.<sup>36</sup>

En el cerebro, se ha demostrado que la eritropoyetina tiene la capacidad significativa de reducir el tamaño del infarto cerebral<sup>54</sup>. La realización de nuevos ensayos clínicos con un diseño adecuado proporcionará información concluyente sobre la aplicación clínica de la eritropoyetina en lesiones provocadas por isquemia-reperfusión, incluyendo la enterocolitis necrosante.<sup>40</sup>

Las conclusiones de los estudios indican que el efecto protector de la eritropoyetina en las lesiones inducidas por la isquemia intestinal se atribuye, al menos en parte, a un aumento en la expresión del VEGF (factor de crecimiento del endotelio vascular).<sup>52</sup>

Esta constatación respalda la habilidad de la eritropoyetina para promover la expresión de factores angiogénicos, además de sus efectos bien conocidos en la eritropoyesis, la proliferación celular y la prevención de la apoptosis. El factor de crecimiento del endotelio vascular se presenta como una citoquina proangiogénica crucial, y varios estudios han evidenciado que la aplicación de eritropoyetina en distintos modelos de isquemia-reperfusión resulta en un incremento de su expresión

Desde un punto de vista metodológico, hay varios aspectos relacionados con la administración de eritropoyetina que podrían ser objeto de discusión. En primer lugar, la elección del momento en que se administra la hormona. Se han revisado varios estudios clínicos que sugieren que administrar esta hormona a los recién nacidos prematuros, con el objetivo de prevenir o tratar la anemia, tiene un efecto protector en el desarrollo de la enterocolitis necrotizante (ECN)<sup>12</sup>. Han investigado el impacto de la eritropoyetina (Epo) cuando se administra después de la fase de

isquemia y antes de la reperfusión o como tratamiento una vez que la lesión intestinal ya ha ocurrido. En el estudio de Guneli et al <sup>59</sup>, este descubrimiento respalda la noción de que la eritropoyetina puede tener un efecto beneficioso tanto como medida preventiva antes de la isquemia como en el tratamiento después de que se ha producido la lesión intestinal en el contexto de la enterocolitis necrosante (ECN).<sup>62</sup>

Las vías de administración utilizadas en los diferentes estudios experimentales han demostrado efecto protector.

Se seleccionó la vía subcutánea para la administración, siguiendo el enfoque empleado en humanos, aunque algunos han utilizado la vía intraperitoneal con resultados positivos. No existe un modelo ideal para la enterocolitis necrotizante; la elección del modelo de isquemia-reperfusión en ratas se fundamenta en la semejanza de las lesiones en la mucosa intestinal con los hallazgos histopatológicos de la ECN en humanos. El rango de lesiones en este modelo abarca desde un desprendimiento mínimo del epitelio de la vellosidad, acompañado de congestión vascular, hasta una necrosis transmural completa. Estos descubrimientos son preponderantes en el intestino delgado y se manifiestan principalmente de forma segmentaria.<sup>36</sup>

Otro motivo que respaldó la elección de estos modelos experimentales es la mayor vulnerabilidad del intestino en animales de pocos días de vida a la isquemia. La mucosa intestinal de ratas de 15 días de vida, en la etapa de destete, es más propensa a los efectos de la isquemia-reperfusión en comparación con el intestino de ratas adultas.<sup>51,52</sup>

#### **5.4. Aporte científico de la Investigación**

Desde el punto de vista teórico se ha comprobado que la Eritropoyetina tiene efecto protector en órganos que son sometidos a isquemia del tejido, en este caso intestinal.

Para efectos práctico, nos permite tener como alternativa terapéutica el uso de Eritropoyetina, en prematuros y recién nacidos de bajo peso al nacer y que este iniciando el primer estadio de enterocolitis necrotizante, con el fin de limitar el avance de esta enfermedad, ya que se ha mencionado que cuando se desencadena el proceso necrótico del intestino, es muy difícil limitarlo.

## CONCLUSIONES

1. El grupo de animales tratados con ligadura de las arterias radiales mesentérica del intestino que recibió tratamiento previo con eritropoyetina. En el 83.33 % de los casos, presentaron grados leves de necrosis (grado I y II escala de Chiud)
2. El grupo de animales tratados solo con ligadura de las arterias radiales mesentérica del intestino en el 50% de los casos, presentaron grados severos de necrosis (grado III y IV escala de Chiud). Comparativamente con el grupo que recibió Eritropoyetina (16.6%)
3. Existen diferencias significativas en el grado de necrosis de ambos grupos. Por lo que se infiere que la eritropoyetina jugó un rol protector en el primer grupo.

## **SUGERENCIAS**

1. Ampliar estudios experimentales en animales de mayor peso que se asemejen a un recién nacido (como el cerdo)
2. Ampliar el número de horas de exposición a la isquemia intestinal, tanto en grupo control Como en el grupo experimental.
3. Realizar este tipo de investigación incluyendo otras variables, con el fin de obtener enfoques de investigación de tipo holístico.

## REFERENCIAS

1. Barlow B, Thomas V, Santulli WC et al; *An experimental study of Acute neonatal Enterocolitis The importance of the Brest Milk*. J. Ped. Surg, 1974, 9 (5);587-594
2. Bolisetty S, Lui K, Oei J, et al. 2000. *A regional study of underlying congenital diseases in term neonates with necrotizing enterocolitis*. Acta Paediatrica 89:1226
3. Chiud C J, Mc Ardle AH. Brown R. Scout HJ. Gurd FN. *Mucosallesions in lowflow States*. Arch Surgery 1970,101:478-83
4. Roy RS,Mc Cord JM, *Superoxide and ischemia: Conversion of xanthine deshidrogenasa to xantieneoxidase*. In Greenwald R, Cohen G eds. *Oxiradicals and their scavenger Celular and molecular aspects*. vol 2 NY Elsevier 1983:
5. Parks Da, Bulkley GB, Granger DN et al. *Ischemic injure in the cat small intestine: role of superoxide radicals*. Gastroenterology 1982; 82:9-17
6. Mc Cord JM,Fridovich I. *The reduction of citocrome C by milk xanthineoxidase*. J Bio Chem 1968;243:5753-60
7. Debold B. Dalen V. Meyer J W. *La investigación experimental*.  
<https://noemagico.blogia.com/2006/092201-la-investigaci-n-experimental.php>
8. De Wall RA, Vasko KA, Stanley EL. Et al. *Responses of the ischemicmyocardium to allopurinol*. Am Heart J 1971;82 :362-704
9. Moya Riera JJ, Fernandez Alonso A, Martinez Rodriguez R 1991. *Efectos del Allopurinol sobre la Isquemia Mesenterica experimental*. Rev. Esp. Enf. Digest. vol 1:15-19

10. More Flores M M, Achata Muñoz Paz Edith et al. *Enterocolitis Necrotizante en el lactante Aspectos clínicos y quirúrgicos 2000*. Paediatrica vol, 3 (2):6-10.
11. More Flores Mario. *Enterocolitiss Necrotizante 2000, Un reto al pediatra* Paediatrica vol ,3 (2): 34-35 Enterocolitis.
12. More Flores. *Un modelo experimental de Enterocolitis Necrotizante: Probable mecanismo de isquemia reperfusion*. Rev del Viernes Medico.
13. Winearls CG, Oliver DO, Pippard MJ, Reid C, Downing MR, Cotes PM. *Effect of human erythropoietin derived from recombinant DNA on the anaemia of patients maintained by chronic haemodialysis*. Lancet.1986; 2: 1175-8.
14. Eschbach JW, Egrie JC. Downing MR, Browne JK, Adamson JW. *Correction of the anemia of end-stage renal disease with recombinant human erythropoietin: results of a combined phase I and phase II clinical trial*. N Eng J Med. 1987; 316: 73-8.
15. Winearls CG, Oliver DO, Pippard MJ, Reid C, Downing MR, CotesPM. *Effect of human erythropoietin derived from recombinant DNA on the anaemia of patients maintained by chronic haemodialysis*. Lancet. 1986; 2:1175-8.
16. Fisher JW. *Erythropoietin: Physiology and Pharmacology Update*. Exp. Biol Med. 2003; 228:1-14.
17. Yu X, Shacka JJ, Eells JB, et al. *Erythropoietin receptor signalling is required for normal brain development*. Development. 2002;129:505- 16.
18. Thompson AM, Bizzarro MJ. *Necrotizing enterocolitis in newborns: pathogenesis, prevention and management*. Drugs 2008; 68 (9): 1227-1238.
19. Eibl MM, Wolf HM, Furnkranz H, Rosenkranz A. *Prevention of necrotizing enterocolitis in low-birth-weight infants by IgA-IgG feeding*. N Engl J Med 1988;319(1): 1-7 Perkhio M, Savilahti E. *Time of appearance of immunoglobulin- containing cells in the mucosa of neonatal intestine*. Pediatr

- Res 1980;14: 953-955.
20. Buescher ES. *Host defense mechanisms of human milk and their relations to enteric infections and necrotizing enterocolitis*. Clin Perinatol 1994;21(2): 247-262.
  21. Glode MP, Sutton A, Moxon ER, Robbins JB. *Pathogenesis of neonatal Escherichia coli meningitis: induction of bacteremia and meningitis in infant rats fed E. coli K1*. Infect Immun. 1977;16(1): 75-80.
  22. Hunter CJ, Chokshi N, Ford HR. *Evidence vs experience in the surgical management of necrotizing enterocolitis and focal intestinal perforation*. J Perinatol 2008;28Suppl 1:
  23. Uauy RD, Fanaroff AA, Korones SB, Philips EA, Philips JB, Wright LN. *Necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants: biodemographic and clinical correlates*. National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network J. Pediatr 1991; 119 (4): 630-638.
  24. Kosloske AM. *Pathogenesis and prevention of necrotizing enterocolitis: a hypothesis based on personal observation and a review of the literature*. Pediatrics 1984; 74(6): 1086- 1092.
  25. 57. Barlow B, Santulli TV, Heird WC, Pitt J, Blanc WA, Schullinger JN. *An experimental study of acute neonatal enterocolitis—the importance of breast milk*. J Pediatr Surg 1974;9(5): 587-595.
  26. Beerens H, Romond C, Neut C. *Influence of breast-feeding on the bifid flora of the newborn intestine*. Am J Clin. Nutr 1980;33(1 1Suppl): 2434-2439.
  27. Barrie H. *Human milk banks*. Lancet 1982;1(8266): 284.
  28. Delemos R, Rogers J, McLaughlin G. *Experimental production of necrotizing enterocolitis in newborn rats*. Pediatr Res 1974;8: 380.
  29. Carbonell X, Esque M, Ojuel J, Ascaso C, Figueras J, Moliner E ea. *Factores de riesgo y pronosticos en la enterocolitis necrotizante*. An Esp Pediatr 1996;45: 398- 402.

30. Williams AJ. *Xanthines and necrotising enterocolitis*. Arch Dis Child 1980; 55 (12):973- 974.
31. Davis JM, Abbasi S, Spitzer AR, Johnson L. *Role of theophylline in pathogenesis of necrotizing enterocolitis*. J Pediatr 1986;109(2): 344- 347.
32. Norton ME, Merrill J, Cooper BA, Kuller JA, Clyman RI. *Neonatal complications after the administration of indomethacin for preterm labor*. N Engl J Med 1993;329(22): 1602- 1607.
33. Bell MJ, Ternberg JL, Feigin RD, Keating JP, Marshall R, Barton L, Brotherton T. *Neonatal necrotizing enterocolitis. Therapeutic decisions based upon clinical staging*. Ann Surg 1978;187(1): 1-7.
34. Ramos Carlos Alberto. *Los Paradigmas de la investigación Científica*. Av. psicol. 23(1) 2015 Enero – Julio.
35. Kanto WP, Jr., Hunter JE, Stoll BJ. *Recognition and medical management of necrotizing enterocolitis*. Clin Perinatol 1994;2 1(2):335-346.
36. Epelman M, Daneman A, Navarro OM, Morag I, Moore AM, Kim JH, Faingold R, Taylor G, Gerstle JT. *Necrotizing enterocolitis: review of state-of-the-art imaging findings with pathologic correlation*. Radiographics 2007;27(2): 285-305
37. Luig M, Lui K. *Epidemiology of necrotizing enterocolitis—Part II: Risks and susceptibility of premature infants during the surfactant era: a regional study*. J. Paediatr Child Health 2005;41(4): 174-179.
38. Sankaran K, Puckett B, Lee DS, Seshia M, Boulton J, Qiu Z, Lee SK. *Variations in incidence of necrotizing enterocolitis in Canadian neonatal intensive care units*. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2004;39(4): 366-372.
39. Sharma R, Tepas JJ, 3rd, Hudak ML, Wludyka PS, Mollitt DL, Garrison RD, Bradshaw JA, Sharma M. *Portal venous gas and surgical outcome of neonatal necrotizing enterocolitis*. J. Pediatr Surg 2005 ;40(2): 371-376.
40. Blakely ML, Lally KP, McDonald S, Brown RL, Barnhart DC, Ricketts RR, Thompson WR, Scherer LR, Klein MD, Letton RW, Chwals WJ, Touloukian



- RJ, Kurkchubasche AG, Skinner MA, Moss RL, Hilfiker ML. *Postoperative outcomes of extremely low birth-weight infants with necrotizing enterocolitis or isolated intestinal perforation: a prospective cohort study by the NICHD Neonatal Research Network*. *Ann Surg* 2005;241(6): 984-989; discussion 989-994.
41. Petty JK, Ziegler MM. *Operative strategies for necrotizing enterocolitis: The prevention and treatment of short-bowel syndrome*. *Semin Pediatr Surg* 2005;14(3): 191-198.
  42. Moss RL, Dimmitt RA, Henry MC, Geraghty N, Efron B. *A meta-analysis of peritoneal drainage versus laparotomy for perforated necrotizing enterocolitis*. *J Pediatr Surg* 2001;36(8): 1210-1213.
  43. Ein SH, Marshall DG, Girvan D. *Peritoneal drainage under local anesthesia for perforations from necrotizing enterocolitis*. *J Pediatr Surg* 1977;12(6): 963-967.
  44. Henry MC, Moss RL. *Neonatal necrotizing enterocolitis*. *Semin Pediatr Surg* 2008; 17(2): 98-109.
  45. Halliday HL, Ehrenkranz RA, Doyle LW. *Moderately early (7-14 days) postnatal corticosteroids for preventing chronic lung disease in preterm infants*. *Cochrane Database Syst Rev* 2003(1): CD001144.
  46. Stark AR, Carlo WA, Tyson JE, Papile LA, Wright LL, Shankaran S, Donovan EF, Oh W, Bauer CR, Saha S, Poole WK, Stoll BJ. *Adverse effects of early dexamethasone in extremely-low-birth-weight infants*. *National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network*. *N Engl J Med* 2001;344(2): 95-101.
  47. Ballin A, Bilker-Reich A, Arbel E, Davidovitz Y, Kohelet D. *Erythropoietin, given enterally, stimulates erythropoiesis in premature infants*. *Lancet* 1999; 353 (9167): 1849.
  48. Juul SE, Anderson DK, Li Y, Christensen RD. *Erythropoietin and erythropoietin receptor in the developing human central nervous system*.

- Pediatric research 1998;43(1): 40-49.
49. Conrad KP, Benyo DF, Westerhausen-Larsen A, Miles TM. *Expression of erythropoietin by the human placenta*. *Faseb J* 1996;10(7): 760-768.
  50. Kertesz N, Wu J, Chen T, Sucov H, Wu H. *The role of erythropoietin in regulating angiogenesis*. *Developmental Biology* 2004;276: 101-110.
  51. Koldovsky O. *The potential physiological significance of milk-borne hormonally active substances for the neonate*. *J Mammary Gland BiolNeoplasia* 1996;1(3): 3 17-323.
  52. McPherson RJ, Juul SE. *High-dose erythropoietin inhibits apoptosis and stimulates proliferation in neonatal rat intestine*. *Growth Horm IGF Res* 2007;17(5): 424-430.
  53. Buemi M, Galeano M, Sturiale A, Ientile R, Crisafulli C, Parisi A, Catania M, Calapai G, Impala P, Aloisi C, Squadrito F, Altavilla D, Bitto A, Tuccari G, Frisina N. *Recombinant human erythropoietin stimulates angiogenesis and healing of ischemic skin wounds*. *Shock* 2004;22(2):169-173.
  54. Mori S, Sawada T, Okada T., Kubota K. *Erythropoietin and its derivative protect the intestine from severe ischemia/reperfusion in the rat*. *Surgery* 2008; 143 (4): 556\_565.
  55. Guneli E., Cavdar Z, Islekel H, Sarioglu S. Erbayraktar S, Erbayraktar S, Kiray M, Sokmen S, Yilmaz O, Gokmen N. *Erythropoietin protect the intestine against ischemia/reperfusion injury in rat*. *Mol Med* 2007;13 (9\_10):509\_517.
  56. Gordillo Paniagua G. *Insuficiencia Renal Cronica. En: Nefrologia pediatrica*. Madrid: Mosby/ Doyma Libros;1995.p.374-94.
  57. Juul SE, Ledbetter DJ, Joyce AE, Dame C Christensen RD. Zhao Y, De Marco V. *Erythropoietin acts as a trophic factor in neonatal rat intestine*. *Gut* 2001;49(2):182- 189.
  58. Kumral A, Baskin H, Duman N, Yilmaz O, Tatli M, Ozer E, Gokmen N, Genc

- S, Ozcan H, *Erythropoietin protects against necrotizing enterocolitis of newborn rats by the inhibiting nitric oxide formation*. Biol Neonate 2003;84(4):325-329.
59. Demestre X, Ginovart G Figueras- Aloy J. et al *Peritoneal drainage as primary management in necrotizing enterocolitis: A prospective study*. J Pediatr Surg 2002;37:1534.
60. Anand RJ, Leaphay CL, Mollen KP, Hackam DJ. *The role of the intestinal barrier in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis*. Shock 2007; 27(2): 124-133.
61. Moore E. Bellomo R. *Erythropoietin (EPO) In acute Kidney injury*. Annals of Intensive Care 2011,1:3. <http://www.annalsofintensivecare.com/content/1/1/3>
62. Wise, Robert; Faurie, Michael; Malbrain,Manu L.N.G. Hodgson, Eric (1 de mayo de 2017) “*Strategies for intravenous Fluid Resuscitation in Trauma Patients*” *World Journal of Surgery* 41(5): 1170-1183 ISSN 0364- 2313 doi: 10.1007/s00268-016- 3865-7
63. Council for the International Organization of Medical Sciences (CIOMS); *Bimedi cal research involving animals, International Guiding Principles*, Geneva, 1993
64. Cardozo de Martinez C. Mrad de Osorio A. *Etica en investigación con animales: Una actitud responsable y respetuosa del investigador con rigor y calidad científica*. Revista Latinoamericana de Bioética. Vol 8(2) 2002: [http://www.scielo.org.co/scielo.php/script=sci\\_arttext&pid=S1657-47022008000200006](http://www.scielo.org.co/scielo.php/script=sci_arttext&pid=S1657-47022008000200006)

# ANEXOS

## ANEXO 01

### MATRIZ DE CONSISTENCIA

**TÍTULO:** EFECTO DE LA ERITROPOYETINA EN LA PREVENCIÓN DE LA ENTEROCOLITIS NECROTIZANTE EN UN MODELO EXPERIMENTAL ISQUEMICO EN RATAS INSTITUTO NACIONAL DE SALUD DEL NIÑO

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	OPERALIZACION			
			VARIABLE	INDICADORES	Valor final que adoptará la	METODO
<p><b>PROBLEMA GENERAL:</b></p> <p>¿Cual es el efecto de la Eritropoyetina en la prevención</p> <p>De la enterocolitis necrotizante</p> <p>Utilizando un modelo experimental en el que se liga los vasos sanguíneos y linfáticos mesentéricos en forma alternada en ratas?</p> <p><b>PROBLEMAS ESPECIFICOS :</b></p> <p>1.- ¿Cuál es el grado de necrosis</p>	<p><b>OBJETIVO GENERAL:</b></p> <p>Determinar el efecto protector de la Eritropoyetina sobre la necrosis intestinal producida por la ligadura alterna de los vasos sanguíneos y linfáticos mesentéricos.</p> <p><b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b></p> <p>1) Evaluar el grado de necrosis intestinal de acuerdo a la escala de Chiud en el grupo experimental que recibió eritropoyetina durante 7 días previos a la ligaduras de vasos sanguíneos y linfáticos mesentéricos</p> <p>2) Precisar el grado de necrosis intestinal de acuerdo con la</p>	<p><b>HIPÓTESIS GENERAL</b></p> <p>Si se aplica eritropoyetina en forma subcutánea profilácticamente, siete días antes, en ratas en quienes se realiza ligadura alternada de los vasos sanguíneos del intestino se observará un efecto protector contra la necrosis de tejido intestinal producida por la isquemia.</p> <p><b>HIPOTESIS ESTADÍSTICAS</b></p> <p>HO: No hay diferencias entre la necrosis del intestino de las</p>	<p><b>VARIABLE INDEPENDIENTE:</b></p> <p>Uso de la eritropoyetina en el tratamiento preventivo de la enterocolitis necrotizante en un modelo experimental</p>	<p>Escala de Chiud</p>	<p>- Al Grupo A: 500 Ukilo día de Hormona Eritropoyetina aplicada en forma sub cutánea, durante 7 días. Ligadura de vasos sanguíneos y linfáticos mesentéricos por 60 minutos y después retiro del tejido.</p> <p>Grado I</p> <p>Grado II</p> <p>Grado III</p>	<p><b>Estudio Experimental.</b></p> <p><b>Población:</b></p> <p>Ratas de raza Holtzen</p> <p><b>Muestra</b></p> <p>84 de raza Holtzen Divididas en dos grupos A y B</p>

<p>intestinal de acuerdo con la escala de Chiud en el grupo experimental que recibió eritropoyetina durante 7 días previos a la ligadura de vasos sanguíneos y linfáticos mesentéricos?</p> <p>2.- ¿Cuál es el grado de necrosis intestinal de acuerdo con la escala de Chiud en el grupo experimental con ligadura de vasos sanguíneos y linfáticos mesentérico a quienes se les aplica suero fisiológico 7 días antes. Luego ligadura 60 min y después retiro de tejido?</p>	<p>escala de Chiud en el grupo experimental con ligadura de vasos sanguíneos y linfáticos mesentéricos a quienes se les aplica suero fisiológico siete días antes. Luego ligadura por 60 min y después retiro del tejido</p>	<p>ratas del grupo testigo y aquellas que reciben Eritropoyetina en forma preventiva HO: Si existen diferencias entre la necrosis del intestino de las ratas del grupo testigo y aquellas que reciben Eritropoyetina en forma profiláctica</p>	<p><b>VARIABLE DEPENDIENTE:</b> Necrosis de la pared intestinal evaluada mediante la escala de Chiud</p>		<p>Grado IV Grado V Sacrificio del animal</p> <p>- <b>Al grupo B:</b> (Grupo testigo): Con aplicación de suero fisiológico 0,5 ml. en las mismas condiciones que para el grupo experimental más ligadura, más retiro de tejido y evaluación con la misma escala</p>	<p><b>Diseño</b> Experimental propiamente dicho, con un grupo experimental (Eritropoyetina) y un grupo de control (suero fisiológico), con una evaluación a los 7 días de la aplicación en ambos.</p> <p><b>Instrumento:</b> Hoja de control para medir el grado de necrosis intestinal de acuerdo con la escala de Chiud en los dos grupos del estudio.</p>
--	--	--	--	--	---	--

## ANEXO 02

## HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

## GRUPO CONTROL

	ANIMAL	THIPOXIA	GRADO I	GRADO II	GRADO III	GRADO IV	GRADO V
1					✓✓		
2					✓✓		
3							✓✓
4			✓✓				
5				✓✓			
6					✓✓		
7				✓✓			
8						✓✓	
9					✓✓		
10				✓✓			
11				✓✓			
12			✓✓				
13					✓✓		
14				✓✓			
15				✓✓			
16						✓✓	
17				✓✓			
18						✓✓	
19							✓✓
20				✓✓			
21				✓✓			
22			✓✓				
23				✓✓			
24					✓✓		
25						✓✓	
26				✓✓			
27				✓✓			
28			✓✓				
29					✓✓		
30					✓✓		
31						✓✓	
32					✓✓		
33				✓✓			
34			✓✓				
35				✓✓			
36					✓✓		
37			✓✓				
38						✓✓	
39						✓✓	
40				✓✓			
41					✓✓		
42							✓✓

## ANEXO 3

## GRUPO CON ERITROPOYETINA

Ratas con ligadura de las arterias radiadas del intestino más Inyección de Eritropoyetina.

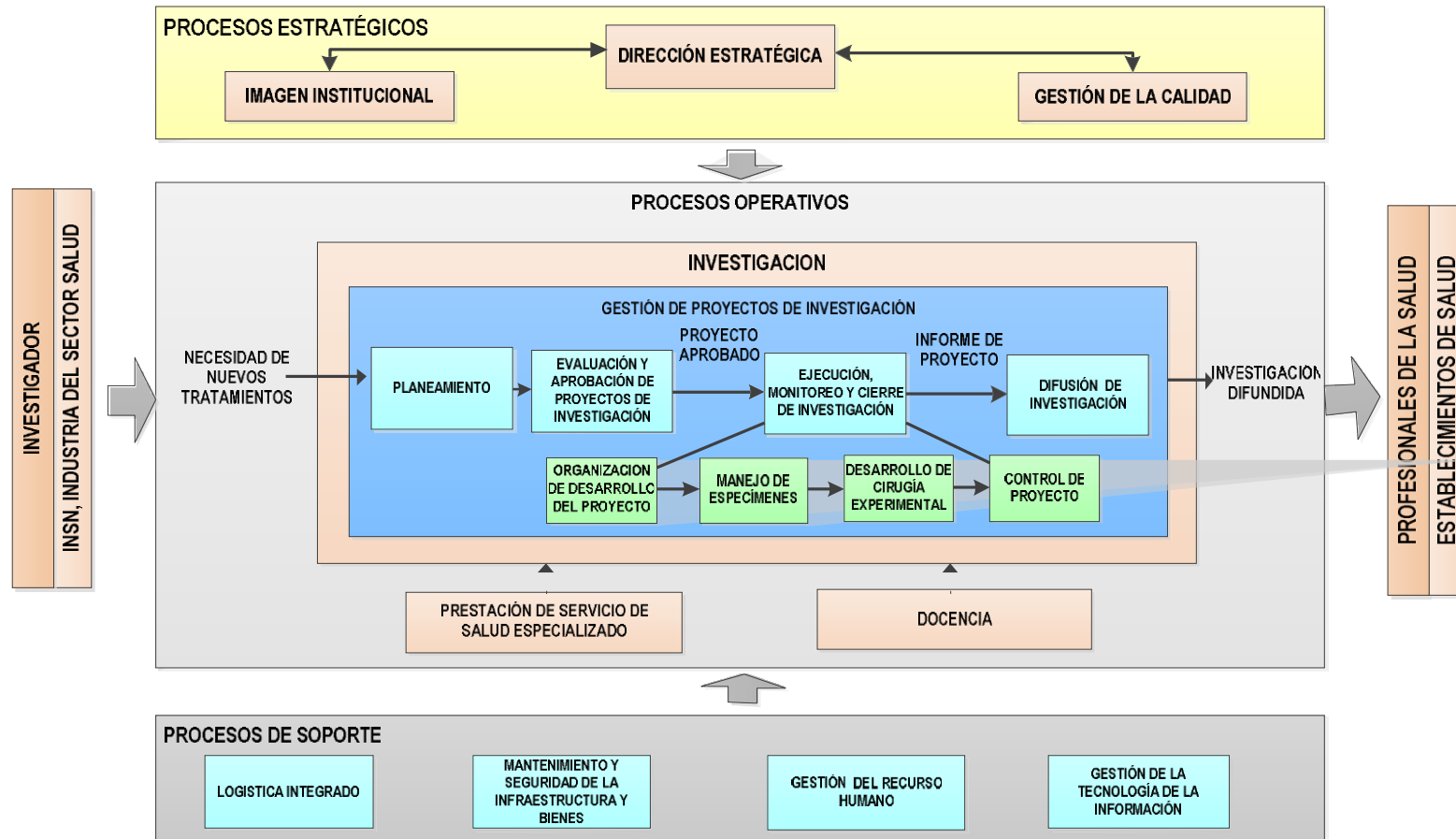
	ANIMAL CERO GRADO	T HIPOXIA	GRADO I	GRADO II	GRADO III	GRADO IV	GRADO V
1			✓✓				
2			✓✓				
3			✓✓				
4			✓✓				
5			✓✓				
6	✓✓						
7			✓✓				
8				✓✓			
9			✓✓				
10	✓✓						
11			✓✓				
12			✓✓				
13				✓✓			
14				✓✓			
15			✓✓				
16			✓✓				
17			✓✓				
18			✓✓				
19			✓✓				
20	✓✓						
21			✓✓				
22			✓✓				
23			✓✓				
24	✓✓						
25			✓✓				
26				✓✓			
27			✓✓				
28			✓✓				
29				✓✓			
30			✓✓				
31			✓✓				
32			✓✓				
33			✓✓				
34	✓✓						
35			✓✓				
36			✓✓				
37			✓✓				
38			✓✓				
39	✓✓						
40	✓✓						
41			✓✓				
42			✓✓				



## ANEXO 04

### MAPA DEL MACROPROCESO DE INVESTIGACION - CIRUGÍA EXPERIMENTAL

**Innovar conocimientos científicos metodológicos y tecnologías para la prevención del riesgo, protección de daños, recuperación de la salud y rehabilitación de las capacidades de las personas**



**ANEXO 05**  
**TRABAJO EXPERIMENTAL**



Ratas Holtzen, de 15 a 30 gramos de peso  
Grupo B aplicación de eritropoyetina recombinante

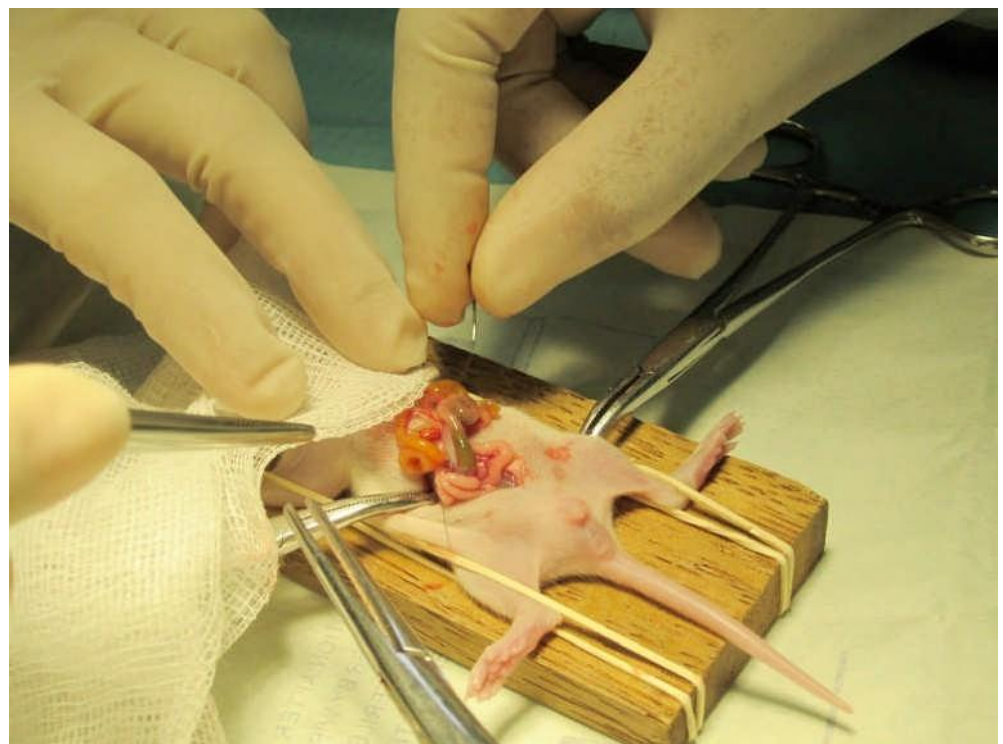
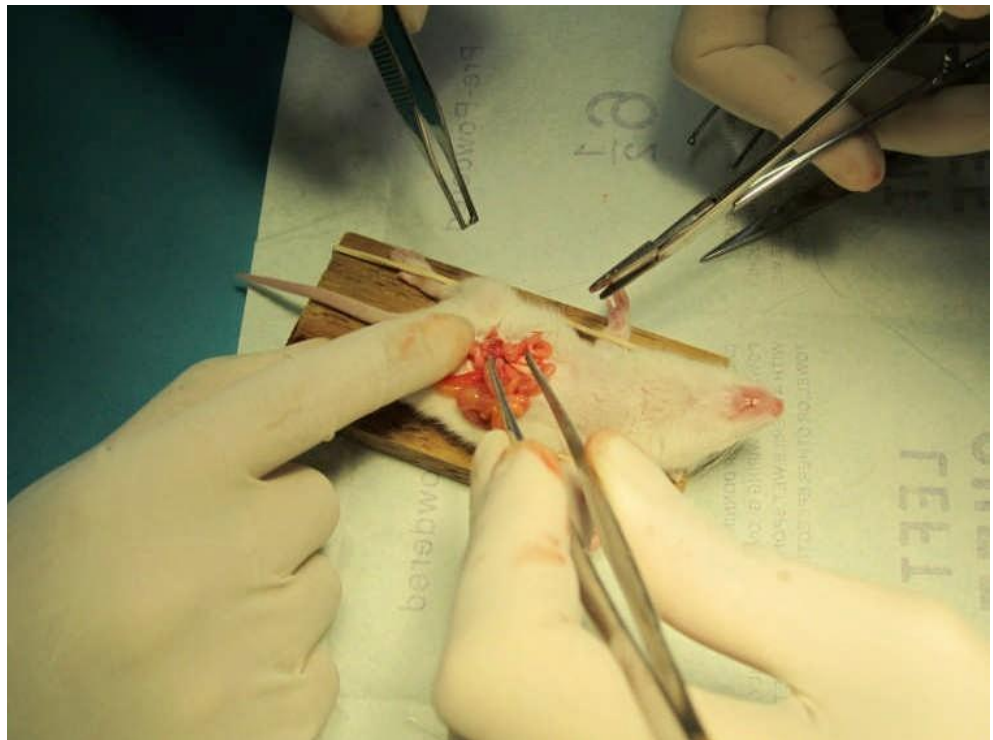


humana.



Aplicación de eritropoyetina recombinante humana.

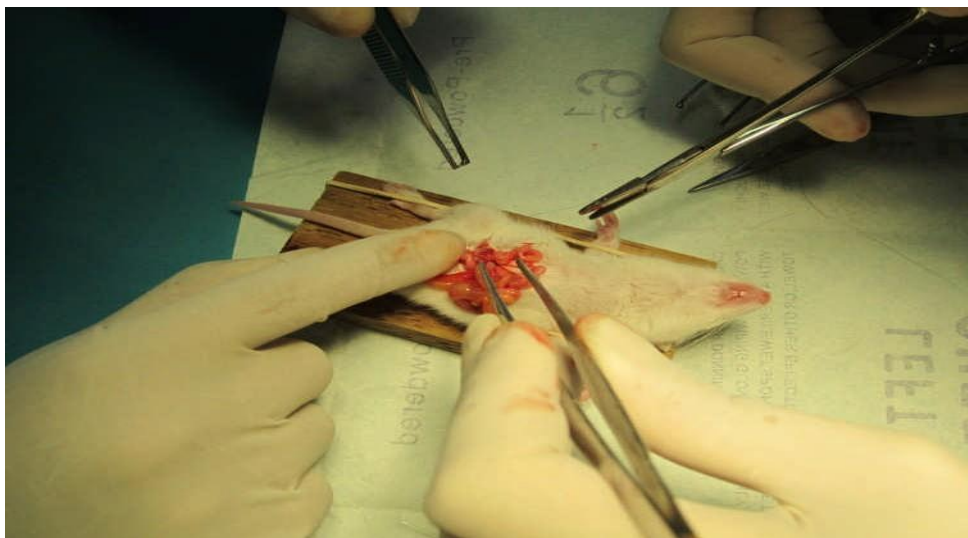
Laparatomía exploratoria para selección de tejido  
intestinal a ligar



Ligadura de vasos sanguíneos.



Cierre de laparatomia exploratoria Reposo de isquemia intestinal por 60'



## ANEXO 06.

### VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

#### CLASIFICACIÓN DE CHIUD

Para el estudio de microscopia se utilizó el estudio descrito por Chiud, el cual se considera que es un parámetro de puntuación adecuada y buen indicador de lesión isquémica.

Por otro lado, el sistema de puntuación de Chiud proporciona una descripción cualitativa de espectro de lesiones que completa el análisis morfométrico. Estudios previos han demostrado que este sistema de puntuación es buen indicador de lesión isquémica, por lo que se tomó en cuenta esta clasificación en el experimento.

La escala para medir el grado de necrosis en fase temprana y tardía por Chiud y colaboradores<sup>33,36,22</sup>, estos estudios fueron publicados en las revistas<sup>4,28,83</sup>. Esta escala es usada a nivel internacional en muchos trabajos, sobre isquemia intestinal, siendo un estudio preciso y claro que tiene coherencia con el hallazgo histológico<sup>10</sup>

GRADO	DESCRIPCIÓN
0	Vellosidades de características normales (v.n.)
1	Espacio subepitelial de Gruenhagen; (e.seg) congestión capilar (c.c.)
2	Separación moderada entre el epitelio y la lámina propia. (s.e.)
3	Separación masiva del epitelio (s.m.e.) que se extiende hacia la base de la vellosidad; algunas vellosidades aparecen denudadas. (v.d.)
4	Denudación de múltiples vellosidades (v.d.m.) con exposición de la lámina propia y de los capilares dilatados (c.d.)
5	Digestión y desintegración de la lámina propia; hemorragia y ulceración.

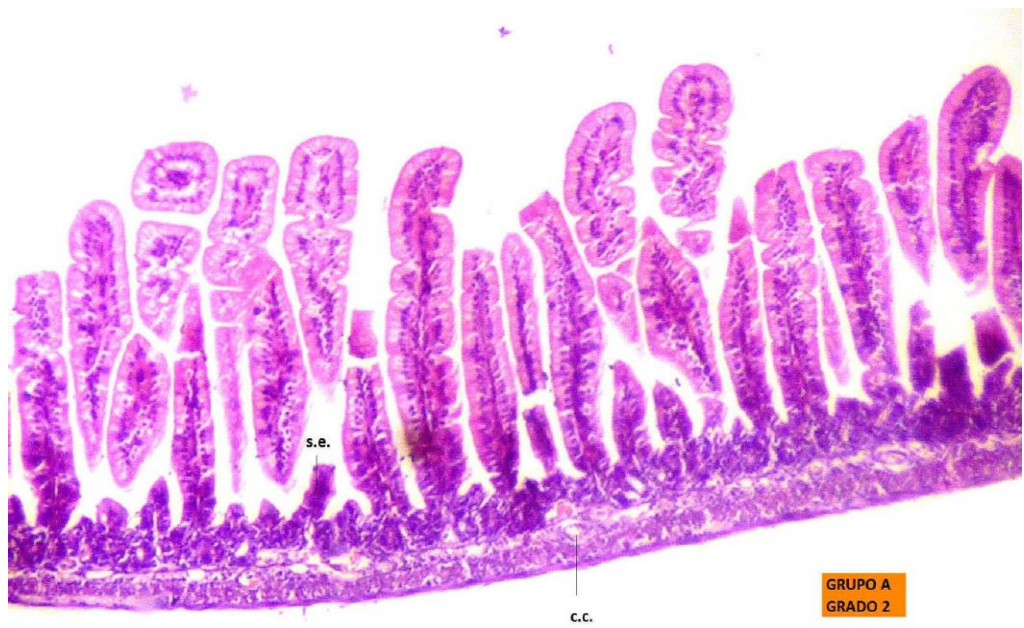
**ANEXO 07**  
**RESULTADOS HISTOLÓGICOS**



GRUPO A CONTROL



GRUPO A  
GRADO 2



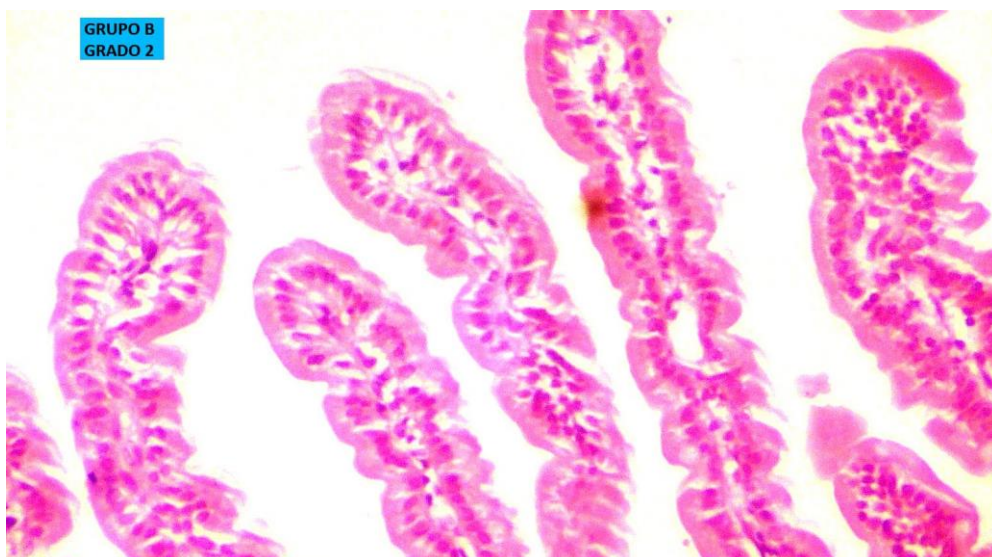
GRUPO A  
GRADO 2

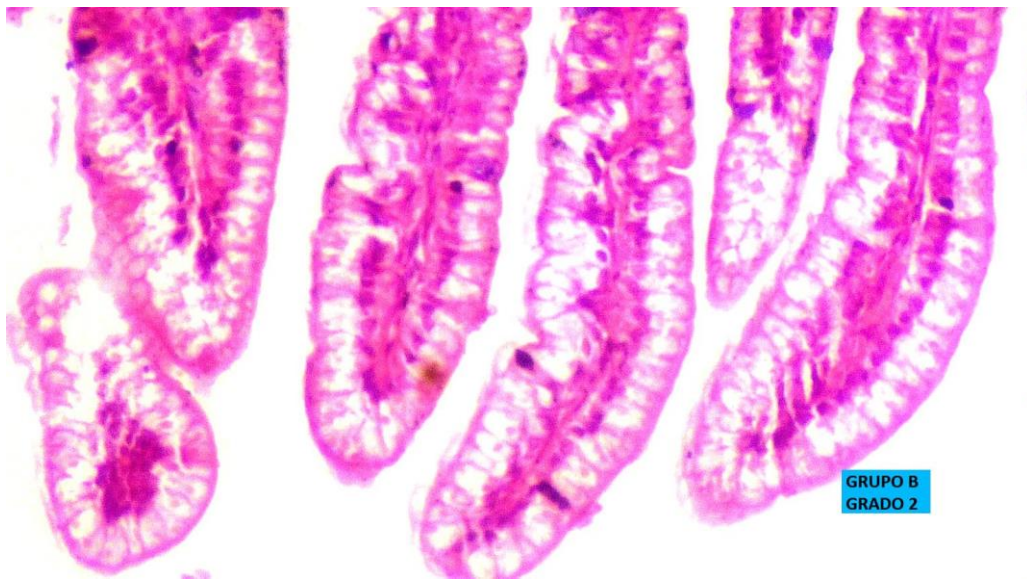
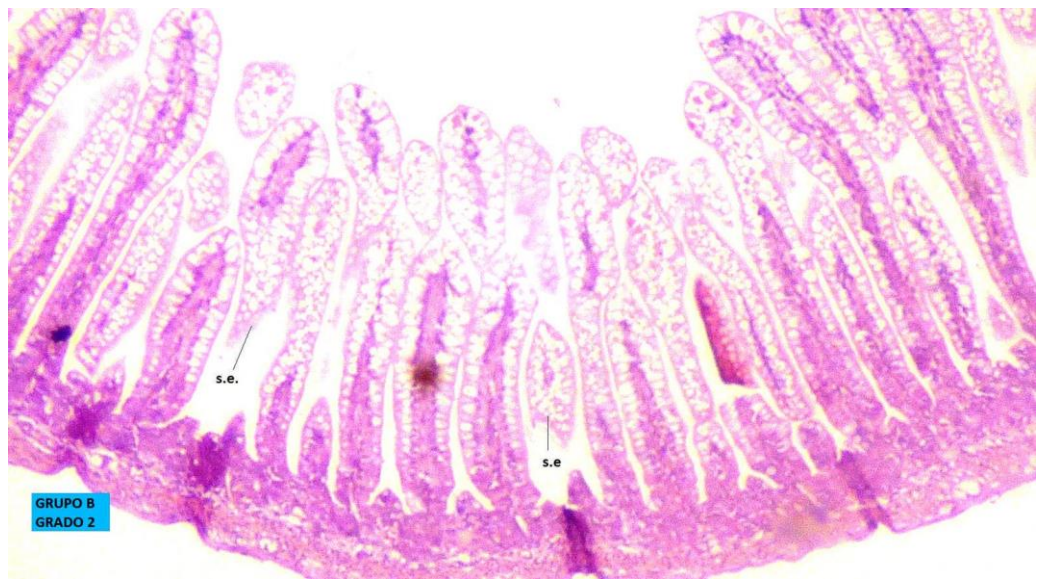


### GRUPO CON ERITROPOYETINA



GRUPO B  
GRADO 1





## NOTA BIOGRÁFICA

**JENNY BEATRIZ VILLALOBOS ALVA**, nació en el distrito de San Vicente provincia de Cañete, departamento de Lima el 16 de setiembre de 1968, hija de Don Gregorio Claudio Villalobos Cuzcano y Doña Julia Clariza Alva de Villalobos, con domicilio actual distrito de Surquillo, provincia de Lima, departamento de Lima. Llevo sus estudios en el Centro Educativo de Mujeres 2018 y su secundaria en el Colegio Nacional de Mujeres Santa Rita de Casia. También realizo sus estudios superiores en la Universidad Nacional Federico Villarreal y obtuvo el título de Médico Cirujano Universidad Nacional Federico Villarreal obteniendo la Especialidad de Cirujano Pediatra, Magister en Educación con mención en investigación y Docencia Universitaria Universidad Nacional Hermilio Valdizán, realizo sus prácticas preprofesionales en el Internado hospitalario Hospital Militar Central 1996, realizo también un Servicio Rural Urbano Marginal hospital de Tocache 1998, ingreso de la especialidad en Cirugía Pediátrica desde el 2000 al 2003 en el Instituto Nacional de Salud del Niño, e ingreso a laborar como médico especialista nombrado en el Ministerio de Salud-Instituto Nacional de Salud del Niño desde el 2005 hasta la actualidad



Huánuco – Perú

ESCUELA DE POSGRADO

Campus Universitario, Pabellón V "A" 2do. Piso – Cayhuayna  
Teléfono 514760 -Pág. Web. [www.posgrado.unheval.edu.pe](http://www.posgrado.unheval.edu.pe)



## ACTA DE DEFENSA DE TESIS DE DOCTOR

En la Plataforma Microsoft Teams de la Escuela de Posgrado; siendo las **19:30h**, del día **martes 28 DE SETIEMBRE DE 2021**; la aspirante al **Grado de Doctor en Ciencias de la Salud, Doña Jenny Beatriz VILLALOBOS ALVA**, procedió al acto de Defensa de su Tesis titulado: **"EFECTO DE LA ERITROPOYETINA EN LA PREVENCIÓN DE LA ENTEROCOLITIS NECROTIZANTE EN UN MODELO EXPERIMENTAL ISQUÉMICO EN RATAS INSTITUTO NACIONAL DE SALUD DEL NIÑO"**, ante los miembros del Jurado de Tesis señores:

Dr. Amancio Ricardo ROJAS COTRINA	Presidente
Dr. Ewer PORTOCAREMO MERINO	Secretario
Dra. Juvita Dina SOTO HILARIO	Vocal
Dra. Dimna Zoila ALFARO QUEZADA	Vocal
Dra. Maria Luz ORTIZ DE AGUI	Vocal

**Asesor de tesis:** Dr. Mario Marcelino MORE FLORES (Resolución N° 02141-2019-UNHEVAL/EPG-D)

Respondiendo las preguntas formuladas por los miembros del Jurado y público asistente.

Concluido el acto de defensa, cada miembro del Jurado procedió a la evaluación de la aspirante a Doctor, teniendo presente los criterios siguientes:

- Presentación personal.
- Exposición: el problema a resolver, hipótesis, objetivos, resultados, conclusiones, los aportes, contribución a la ciencia y solución a un problema social y recomendaciones.
- Grado de convicción y sustento bibliográfico utilizados para las respuestas a las interrogantes del Jurado y público asistente.
- Dicción y dominio de escenario.

Así mismo, el Jurado planteó a la tesis **las observaciones** siguientes:

.....  
.....  
.....

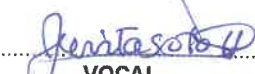
Obteniendo en consecuencia la Doctorando la Nota de..... DIECISIETE ..... ( 17 )

Equivalente a MUY BUENO ..... por lo que se declara APROBADO .....  
(Aprobado ó desaprobado)


Los miembros del Jurado firman la presente **ACTA** en señal de conformidad, en Huánuco, siendo las 21:5 horas del 28 de setiembre de 2021.

  
.....  
**PRESIDENTE**  
DNI N° 04025628

  
.....  
**SECRETARIO**  
DNI N° 41532365

  
.....  
**VOCAL**  
DNI N° 20718040

  
.....  
**VOCAL**  
DNI N° 08448344

  
.....  
**VOCAL**  
DNI N° 02423192

**Leyenda:**  
19 a 20: Excelente  
17 a 18: Muy Bueno  
14 a 16: Bueno

(Resolución N° 02243-2021-UNHEVAL/EPG-D)



UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN

ESCUELA DE POSGRADO



**CONSTANCIA DE SIMILITUD N° 109-2023-SOFTWARE  
ANTIPLAGIO TURNITIN-UNHEVAL-EPG**

La Directora de la Escuela de Posgrado, emite la presente *CONSTANCIA DE SIMILITUD*, aplicando el software *TURNITIN*, el cual reporta un **17%** de similitud, correspondiente a la interesada **Jenny Beatriz VILLALOBOS ALVA**, de la tesis titulada: **EFECTO DE LA ERITROPOYETINA EN LA PREVENCIÓN DE LA ENTEROCOLITIS NECROTIZANTE EN UN MODELO EXPERIMENTAL ISQUÉMICO EN RATAS INSTITUTO NACIONAL DE SALUD DEL NIÑO**, cuyo asesor es el Dr. Mario Marcelino MORE FLORES; por consiguiente.

**SE DECLARA APTO**

Se expide la presente, para los trámites pertinentes.

Cayhuayna, 21 de diciembre de 2023.



**Dra. Digna Amabilia Manrique de Lara Suarez**  
**DIRECTORA DE LA ESCUELA DE POSGRADO**  
**UNHEVAL**

NOMBRE DEL TRABAJO

**EFFECTO DE LA ERITROPOYETINA EN LA PREVENCIÓN DE LA ENTEROCOLITIS NECROTIZANTE EN UN MODELO EXPERIMENTAL ISQUÉMICO EN RATAS INSTITUTO NACIONAL DE SALUD DEL NIÑO**

AUTOR

**JENNY BEATRIZ VILLALOBOS ALVA**

RECUENTO DE PALABRAS

**10362 Words**

RECUENTO DE CARACTERES

**58098 Characters**

RECUENTO DE PÁGINAS

**43 Pages**

TAMAÑO DEL ARCHIVO

**350.0KB**

FECHA DE ENTREGA

**Dec 21, 2023 8:18 AM GMT-5**

FECHA DEL INFORME

**Dec 21, 2023 8:19 AM GMT-5**

### ● 17% de similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos

- 17% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 4% Base de datos de trabajos entregados
- 1% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

### ● Excluir del Reporte de Similitud

- Material bibliográfico
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 15 palabras)



## AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DIGITAL Y DECLARACIÓN JURADA DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR UN GRADO ACADÉMICO O TÍTULO PROFESIONAL

### 1. Autorización de Publicación: (Marque con una "X")

<b>Pregrado</b>	<b>Segunda Especialidad</b>	<b>Posgrado:</b>	<b>Maestría</b>	<b>Doctorado</b>	X
Pregrado (tal y como está registrado en <b>SUNEDU</b> )					
<b>Facultad</b>					
<b>Escuela Profesional</b>					
<b>Carrera Profesional</b>					
<b>Grado que otorga</b>					
<b>Título que otorga</b>					
Segunda especialidad (tal y como está registrado en <b>SUNEDU</b> )					
<b>Facultad</b>					
<b>Nombre del programa</b>					
<b>Título que Otorga</b>					
Posgrado (tal y como está registrado en <b>SUNEDU</b> )					
<b>Nombre del Programa de estudio</b>	CIENCIAS DE LA SALUD				
<b>Grado que otorga</b>	DOCTOR EN CIENCIAS DE LA SALUD				

### 2. Datos del Autor(es): (Ingrese todos los datos requeridos completos)

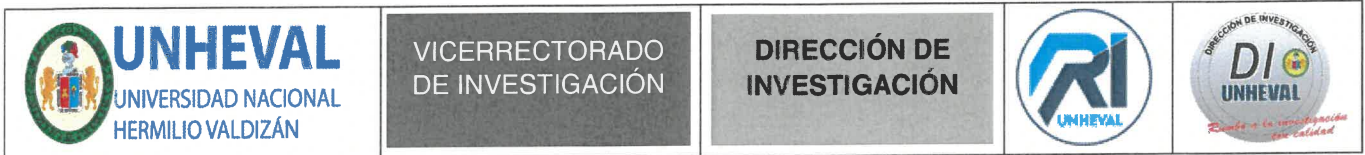
<b>Apellidos y Nombres:</b>	VILLALOBOS ALVA JENNY BEATRIZ							
<b>Tipo de Documento:</b>	<b>DNI</b>	<input checked="" type="checkbox"/>	<b>Pasaporte</b>	<input type="checkbox"/>	<b>C.E.</b>	<input type="checkbox"/>	<b>Nro. de Celular:</b>	999294963
<b>Nro. de Documento:</b>	15354681			<b>Correo Electrónico:</b>	jenvilalv@gmail.com			
<b>Apellidos y Nombres:</b>								
<b>Tipo de Documento:</b>	<b>DNI</b>	<input type="checkbox"/>	<b>Pasaporte</b>	<input type="checkbox"/>	<b>C.E.</b>	<input type="checkbox"/>	<b>Nro. de Celular:</b>	
<b>Nro. de Documento:</b>				<b>Correo Electrónico:</b>				
<b>Apellidos y Nombres:</b>								
<b>Tipo de Documento:</b>	<b>DNI</b>	<input type="checkbox"/>	<b>Pasaporte</b>	<input type="checkbox"/>	<b>C.E.</b>	<input type="checkbox"/>	<b>Nro. de Celular:</b>	
<b>Nro. de Documento:</b>				<b>Correo Electrónico:</b>				

### 3. Datos del Asesor: (Ingrese todos los datos requeridos completos según DNI, no es necesario indicar el Grado Académico del Asesor)

<b>¿El Trabajo de Investigación cuenta con un Asesor?:</b> (marque con una "X" en el recuadro del costado, según corresponda)								<b>SI</b>	<input checked="" type="checkbox"/>	<b>NO</b>	<input type="checkbox"/>
<b>Apellidos y Nombres:</b>	MORE FLORES MARIO MARCELINO					<b>ORCID ID:</b>	0000-0002-2107-0070				
<b>Tipo de Documento:</b>	<b>DNI</b>	<input checked="" type="checkbox"/>	<b>Pasaporte</b>	<input type="checkbox"/>	<b>C.E.</b>	<input type="checkbox"/>	<b>Nro. de documento:</b>	06754042			

### 4. Datos del Jurado calificador: (Ingrese solamente los Apellidos y Nombres completos según DNI, no es necesario indicar el Grado Académico del Jurado)

<b>Presidente:</b>	ROJAS COTRINA AMANCIO RICARDO
<b>Secretario:</b>	PORTOCARRERO MERINO EWER
<b>Vocal:</b>	SOTO HILARIO JUVITA DINA
<b>Vocal:</b>	ALFARO QUEZADA DIMNA ZOILA
<b>Vocal:</b>	ORTIZ DE AGUI MARIA LUZ
<b>Accesitario</b>	


**5. Declaración Jurada: (Ingrese todos los datos requeridos completos)**

a) Soy Autor (a) (es) del Trabajo de Investigación Titulado: <i>(Ingrese el título tal y como está registrado en el Acta de Sustentación)</i>
EFFECTO DE LA ERITROPOYETINA EN LA PREVENCIÓN DE LA ENTEROCOLITIS NECROTIZANTE EN UN MODELO EXPERIMENTAL ISQUÉMICO EN RATAS INSTITUTO NACIONAL DE SALUD DEL NIÑO.
b) El Trabajo de Investigación fue sustentado para optar el Grado Académico o Título Profesional de: <i>(tal y como está registrado en SUNEDU)</i>
DOCTOR EN CIENCIAS DE LA SALUD
c) El Trabajo de investigación no contiene plagio (ninguna frase completa o párrafo del documento corresponde a otro autor sin haber sido citado previamente), ni total ni parcial, para lo cual se han respetado las normas internacionales de citas y referencias.
d) El trabajo de investigación presentado no atenta contra derechos de terceros.
e) El trabajo de investigación no ha sido publicado, ni presentado anteriormente para obtener algún Grado Académico o Título profesional.
f) Los datos presentados en los resultados (tablas, gráficos, textos) no han sido falsificados, ni presentados sin citar la fuente.
g) Los archivos digitales que entrego contienen la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado.
h) Por lo expuesto, mediante la presente asumo frente a la Universidad Nacional Hermilio Valdizan (en adelante LA UNIVERSIDAD), cualquier responsabilidad que pudiera derivarse por la autoría, originalidad y veracidad del contenido del Trabajo de Investigación, así como por los derechos de la obra y/o invención presentada. En consecuencia, me hago responsable frente a LA UNIVERSIDAD y frente a terceros de cualquier daño que pudiera ocasionar a LA UNIVERSIDAD o a terceros, por el incumplimiento de lo declarado o que pudiera encontrar causas en la tesis presentada, asumiendo todas las cargas pecuniarias que pudieran derivarse de ello. Asimismo, por la presente me comprometo a asumir además todas las cargas pecuniarias que pudieran derivarse para LA UNIVERSIDAD en favor de terceros con motivo de acciones, reclamaciones o conflictos derivados del incumplimiento de lo declarado o las que encontraren causa en el contenido del trabajo de investigación. De identificarse fraude, piratería, plagio, falsificación o que el trabajo haya sido publicado anteriormente; asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, someténdome a la normatividad vigente de la Universidad Nacional Hermilio Valdizan.

**6. Datos del Documento Digital a Publicar: (Ingrese todos los datos requeridos completos)**

Ingrese solo el año en el que sustentó su Trabajo de Investigación: <i>(Verifique la Información en el Acta de Sustentación)</i>			2021			
Modalidad de obtención del Grado Académico o Título Profesional: <i>(Marque con X según Ley Universitaria con la que inició sus estudios)</i>	Tesis	<input checked="" type="checkbox"/>	Tesis Formato Artículo	<input type="checkbox"/>	Tesis Formato Patente de Invención	<input type="checkbox"/>
	Trabajo de Investigación	<input type="checkbox"/>	Trabajo de Suficiencia Profesional	<input type="checkbox"/>	Tesis Formato Libro, revisado por Pares Externos	<input type="checkbox"/>
	Trabajo Académico	<input type="checkbox"/>	Otros <i>(especifique modalidad)</i>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
Palabras Clave: <i>(solo se requieren 3 palabras)</i>	ERITROPOYETINA	ENTEROCOLITIS NECROTIZANTE	EFFECTO PROTECTOR ERITROPOYETINA			
Tipo de Acceso: <i>(Marque con X según corresponda)</i>	Acceso Abierto	<input checked="" type="checkbox"/>	Condición Cerrada (*)	<input type="checkbox"/>		
	Con Periodo de Embargo (*)	<input type="checkbox"/>	Fecha de Fin de Embargo:			
¿El Trabajo de Investigación, fue realizado en el marco de una Agencia Patrocinadora? <i>(ya sea por financiamientos de proyectos, esquema financiero, beca, subvención u otras; marcar con una "X" en el recuadro del costado según corresponda):</i>	SI	<input type="checkbox"/>	NO	<input checked="" type="checkbox"/>		
Información de la Agencia Patrocinadora:						

El trabajo de investigación en digital y físico tienen los mismos registros del presente documento como son: Denominación del programa Académico, Denominación del Grado Académico o Título profesional, Nombres y Apellidos del autor, Asesor y Jurado calificador tal y como figura en el Documento de Identidad, Título completo del Trabajo de Investigación y Modalidad de Obtención del Grado Académico o Título Profesional según la Ley Universitaria con la que se inició los estudios.





### 7. Autorización de Publicación Digital:

A través de la presente. Autorizo de manera gratuita a la Universidad Nacional Hermilio Valdizán a publicar la versión electrónica de este Trabajo de Investigación en su Biblioteca Virtual, Portal Web, Repositorio Institucional y Base de Datos académica, por plazo indefinido, consintiendo que con dicha autorización cualquier tercero podrá acceder a dichas páginas de manera gratuita pudiendo revisarla, imprimirla o grabarla siempre y cuando se respete la autoría y sea citada correctamente. Se autoriza cambiar el contenido de forma, más no de fondo, para propósitos de estandarización de formatos, como también establecer los metadatos correspondientes.

Firma:			
Apellidos y Nombres:	VILLALOBOS ALVA JENNY BEATRIZ		Huella Digital
DNI:	15354681		
Firma:			
Apellidos y Nombres:			Huella Digital
DNI:			
Firma:			
Apellidos y Nombres:			Huella Digital
DNI:			
Fecha: 26 /01 /2024			

### Nota:

- ✓ No modificar los textos preestablecidos, conservar la estructura del documento.
- ✓ Marque con una X en el recuadro que corresponde.
- ✓ Llenar este formato de forma digital, con tipo de letra **calibri**, **tamaño de fuente 09**, manteniendo la alineación del texto que observa en el modelo, sin errores gramaticales (*recuerde las mayúsculas también se tildan si corresponde*).
- ✓ La información que escriba en este formato debe coincidir con la información registrada en los demás archivos y/o formatos que presente, tales como: DNI, Acta de Sustentación, Trabajo de Investigación (PDF) y Declaración Jurada.
- ✓ Cada uno de los datos requeridos en este formato, es de carácter obligatorio según corresponda.